



Universidade do Porto

FEUP Faculdade de Engenharia

Mestrado Integrado em Engenharia Química

Ultrafiltração de extrato de casca de *Eucalyptus globulus* para recuperação de compostos polifenólicos

Tese de Mestrado

de

Maria Eduarda Alves Baptista

Desenvolvida no âmbito da disciplina de Dissertação

realizado em:

LSRE – FEUP



Orientadores

Doutora Paula Pinto

Prof. José Miguel Loureiro

Departamento de Engenharia Química

setembro de 2013

Resumo

O *Eucalyptus globulus* Labill ocupa uma área de 812 mil hectares em Portugal continental e é a matéria-prima principal na produção de papel. Antes da produção de pasta, a casca é removida devido ao seu elevado conteúdo em extratáveis e cinzas, e ao tipo de fibra que constitui este material que o tornam desadequado para incorporar no processo de cozimento, sendo no entanto utilizada como biomassa florestal. Esta utilização está muito aquém das suas potencialidades dada a sua riqueza em compostos de valor acrescentado e por isso tornou-se urgente a aposta em processos sustentáveis que permitam a recuperação desses mesmos compostos. Os processos de separação por membranas têm-se destacado como alternativas bastante promissoras aos processos clássicos de separação, uma vez que oferecem vantagens no que concerne ao consumo de energia, especificidade e facilidade em adaptação à escala industrial contribuindo, deste modo, para valorizar a biomassa enquadrando-se na perspetiva dos princípios verdes da engenharia.

Com o presente trabalho pretende-se contribuir no âmbito do fracionamento/concentração de extratos obtidos a partir da casca de *E. globulus* utilizando o processo de separação por membranas para isso utilizaram-se extratos etanólicos obtidos a partir da casca do *E. globulus*, tendo sido selecionadas quatro membranas de ultrafiltração - GE 1, P 5, JW 30 e EW 60. Ao longo do trabalho avaliou-se o desempenho individual de cada uma das membranas relativamente à rejeição dos sólidos totais presentes em solução, compostos fenólicos totais, proantocianidinas, açúcares redutores e ainda número de stiasny para diferentes pressões transmembranares. Fez-se uma análise a cada membrana quanto às resistências desenvolvidas durante a operação e avaliou-se ainda o seu comportamento à lavagem química após separação.

Estabelecendo um compromisso entre o fluxo de permeado, resistência devida ao *fouling* e rejeição aos fenólicos totais e proantocianidinas, as pressões ótimas de operação encontradas para os ensaios efetuados foram: EW 60 – 3 bar; JW 30, P 5 e GE 1 – 5 bar.

Palavras-chave: Ultrafiltração, casca de *Eucalyptus globulus*, compostos polifenólicos, *fouling*, biorrefinaria.

Declaração

Declaro, sob compromisso de honra, que este trabalho é original e que todas as contribuições não originais foram devidamente referenciadas com identificação da fonte.

Porto, ____ de _____ de ____

Índice

1.	Introdução	1
1.1.	Enquadramento e Apresentação do Projeto	1
1.2.	Organização da Tese	2
2.	Estado da Arte	3
2.1.	A casca de <i>Eucalyptus globulus</i>	3
2.1.1.	Composição química da casca do <i>Eucalyptus globulus</i>	4
2.2.	Valorização dos Componentes Extrativos da Casca do <i>E. globulus</i> .	10
2.3.	Fracionamento e Concentração de Extratos obtidos a partir da casca do <i>E. globulus</i> por Processos de Membranas.	11
2.3.1.	Definição e Classificação das Membranas	11
2.3.2.	Caraterização de Membranas de Ultrafiltração	14
2.3.3.	Transporte pelas Membranas Porosas	14
3.	Procedimento Experimental	19
3.1.	Extração sólido-líquido da casca do <i>Eucalyptus globulus</i> com solução de 80% (V/V) etanol nos reatores M/K.	19
3.2.	Unidade de ultra/nanofiltração – Instalação experimental	20
3.3.	Procedimento seguido nos ensaios de permeação do extrato.	22
3.3.1.	Membranas selecionadas e principais caraterísticas fornecidas pelos fabricantes	22
3.3.2.	Acondicionamento das membranas	22
3.3.3.	Caraterização das Membranas – permeabilidade aos solventes.	23
3.3.4.	Preparação do extrato para permeação	24
3.3.5.	Permeação do extrato	24
3.3.6.	Limpeza das Membranas	26
3.4.	Métodos de Análise da alimentação, permeados e retentados.	27
3.4.1.	Determinação de Sólidos totais	27
3.4.2.	Método Folin-Ciocalteu – Determinação de Fenólicos Totais	27
3.4.3.	Método Ácido-Butanol – Determinação de Proantocianidinas	27
3.4.4.	Número de Stiasny – Determinação em polifenóis condensáveis em formaldeído	28
3.4.5.	Açúcares Redutores	28
4.	Resultados Experimentais e Discussão	31
4.1.	Caraterização das Membranas	31
4.1.1.	Permeabilidade a solventes	31
4.2.	Permeação dos extratos obtidos a partir da casca do <i>E. globulus</i> nas diferentes membranas	33
4.2.1.	Composição Química Média da Alimentação	33
4.2.2.	Comportamento das membranas ao longo do regime transiente até ao regime estacionário	34
4.2.3.	<i>Fouling</i> nas membranas e análise de resistências	39
4.2.4.	Efeito da pressão transmembranar na separação de compostos polifenólicos	44
4.3.	Pressão ótima para operação com as membranas	48
5.	Principais Conclusões	49

Anexo 1	55
Exemplo de cálculo para a determinação da permeabilidade hidráulica da membrana e a respetiva resistência.	55

Índice de tabelas

Tabela 1 - Síntese da composição química global (%m/m _{seca}) da casca do <i>E. globulus</i>	4
Tabela 2 – Percentagens de extratáveis polares da casca do <i>E. globulus</i> e algumas propriedades.....	9
Tabela 3 – Valores teóricos obtidos pela Metodologia de Superfície de Resposta e valores experimentais para as condições que correspondem ao ponto óptimo da curva e para as condições com o IC50 mais baixo em (33).....	10
Tabela 4 – Especificações fornecidas pelos fabricantes das membranas estudadas.....	22
Tabela 5 – Fluxos da água e das soluções etanólicas para as pressões de: 3 bar, 5 bar e 8 bar (T=35°C e Q=4,5 Lpm).....	31
Tabela 6 – Permeabilidades das membranas estudadas à temperatura de 35°C e um caudal de 4,5 Lpm.	32
Tabela 7 – Composição química média dos extratos utilizados durante o processo de separação com membranas e os valores referenciados em bibliografia (33).....	33
Tabela 8 – Redução relativa do permeado ao longo da permeação do extrato nas diferentes membranas para as diferentes pressões.....	36
Tabela 9 - Redução relativa do permeado quando se passa de 5 bar para 3 bar e de 8 bar para 5 bar. ...	37
Tabela 10 – Redução do fluxo relativa em percentagem quando se compara o fluxo de permeado do extrato no estado estacionário e o fluxo de permeado do solvente.....	40
Tabela 11 – Resistência intrínseca de cada membrana (R _{H2O}) e resistência total quando atravessa solução de EtOH 80%.....	41
Tabela 12 – Valores das diferentes resistências.	42
Tabela 13 – Comportamento da membrana à lavagem da membrana com solução etanólica e com solução etanólica com NaOH.	42
Tabela 14 - Caraterização da alimentação, dos permeados e retentados obtidos a partir da permeação do extrato à temperatura de 35 °C, com um caudal de circulação de 4,5 Lpm e a diferentes pressões aplicadas em modo sequencial e em reciclo total com as membranas seleccionadas GE 1, P 5, JW 30 e EW 60.	44
Tabela 15 – Retas e respetivos coeficientes de correlação para os ajustes lineares entre a rejeição aos diferentes compostos em função da pressão transmembranar.	46

Índice de figuras

Figura 1 – Diferentes partes do tronco e casca do <i>E. globulus</i> . A. Representação esquemática das zonas morfológicas; B. Imagem da casca externa e casca interna.....	3
Figura 2 – Representação esquemática dos constituintes químicos da casca, adaptado de (16).....	4
Figura 3 – Fórmula estereoquímica da Celulose: polímero de unidades β -D-glucopiranosose ligadas por ligações glicosídicas β 1 \rightarrow 4. A unidade dimérica que se repete é celobiose (n entre 4000 e 5000).	5
Figura 4 – Fórmulas estruturais dos principais monossacarídeos das hemiceluloses.	6
Figura 5 – Estrutura química das unidades precursoras da lenhina, (16).....	7
Figura 6 – Compostos fenólicos encontrados em maior quantidade nos extrativos da casca de <i>E. globulus</i> e respectivas massas molares.	9
Figura 7 – Classificação das membranas, adaptado de (38) e (41).	12
Figura 8 – Intervalos de aplicação dos vários processos de separação por membranas e alguns exemplos das suas aplicações, imagem retirada de (42) e informações adaptadas de (38) e (41).....	12
Figura 9 – Fluxo do permeado em função da pressão onde se encontram destacadas a região controlada pela pressão e a região controlada pela transferência de massa na camada adjacente à membrana – esquema adaptado de (41).....	15
Figura 10 – Mecanismos de <i>fouling</i> na membrana, retirado de (43).	16
Figura 11 – Representação esquemática do fluxo de permeado ao longo do tempo antes da separação, durante a separação e depois da separação, retirado de (43).	17
Figura 12 – Reatores MK utilizados nas extrações de casca de <i>Eucalyptus globulus</i> – instituto RAIZ.	19
Figura 13 – Instalação de ultra/nanofiltração.	20
Figura 14 – Representação esquemática da instalação de ultrafiltração.	20
Figura 15 – Célula de permeação. Desenho adaptado de <i>GE Osmonics</i>	21
Figura 16 – Fluxo de permeado na membrana GE 1, em função do tempo para diferentes pressões aplicadas em modo sequencial e em reciclo total à T=35 °C e Q=4,5 Lpm.....	35
Figura 17 – Fluxo de permeado na membrana P 5, em função do tempo para diferentes pressões aplicadas em modo sequencial e em reciclo total à T=35 °C e 4,5 Lpm.	35
Figura 18 – Fluxo de permeado na membrana JW 30 em função do tempo para diferentes pressões aplicadas em modo sequencial e em reciclo total à T=35 °C e Q=4,5 Lpm.....	35
Figura 19 – Fluxo de permeado na membrana EW 60 em função do tempo para diferentes pressões aplicadas em modo sequencial e em reciclo total à T=35 °C e Q=4,5 Lpm.....	36
Figura 20 – Influência da pressão transmembranar (à esquerda) e do <i>cut-off</i> cedido pelo fornecedor (à direita) da membrana no fluxo do permeado de extrato para diferentes pressões aplicadas em modo sequencial e em reciclo total.....	38
Figura 21 – Variação da resistência devida ao <i>fouling</i> em função da pressão transmembranar.	43

Figura 22 – Rejeição aos sólidos totais (A), compostos fenólicos totais (B) e proantocianidinas (C) na permeação do extrato à temperatura de 35°C, com um caudal de permeação 4,5 Lpm e a diferentes pressões aplicadas em modo sequencial e em reciclo total com as membranas seleccionadas GE 1, P 5, JW 30, EW 60.	45
Figura 23 – Sólidos totais (A), compostos fenólicos totais (B) e proantocianidinas (C) presentes na alimentação e nos permeados obtidos durante a permeação do extrato à temperatura de 35°C, com um caudal de permeação 4,5 Lpm e a diferentes pressões aplicadas em modo sequencial e em reciclo total com as membranas seleccionadas GE 1, P 5, JW 30, EW 60.	46
Figura 24 – Rejeição aos taninos condensáveis em formaldeído na permeação do extrato à temperatura de 35°C, com um caudal de permeação 4,5 Lpm e a diferentes pressões aplicadas em modo sequencial e em reciclo total com as membranas seleccionadas GE 1, P 5, JW 30, EW 60.	47
Figura 26 – Fluxo do permeado em função da pressão transmembranar aplicada.	55

Notação e Glossário

J_p	Fluxo volumétrico de permeado	$Lm^{-2}h^{-1}$
R_T	Resistência total	m^{-1}
R_m	Resistência inerente à membrana	m^{-1}
L_p	Permeabilidade da membrana	$Lm^{-2}h^{-1}bar^{-1}$
A_m	Área da membrana	m^2

Letras gregas

μ	Viscosidade dinâmica	$Pa.s$
-------	----------------------	--------

Índices

AG	Ácido gálico
EM	Extrato de mimosa
GLU	Glucose

Lista de Siglas

TMP	Pressão transmembranar
MWCO	Molecular weight cut-off – Valor de corte molecular
RRF	Redução relativa de fluxo

1. Introdução

1.1. Enquadramento e Apresentação do Projeto

A história evolutiva do eucalipto data de há 51,9 milhões de anos. Este género de árvores tem mais de seiscentas espécies (1), quase todas originárias da Austrália e foi introduzida no ocidente pelo naturalista e botânico inglês Sir Joseph Banks, graças à expedição do capitão James Cook, em 1770. No entanto, só por volta de 1830, é que o ocidente tomou conhecimento das suas valiosas essências, através do médico e botânico alemão Barão Ferdinand Von Müller.

Atualmente, em Portugal continental, o uso dominante do solo, 35,4%, é florestal sendo o eucalipto (dominado pela espécie *Eucalyptus globulus*) o género dominante, ocupando assim, uma área de 812 mil hectares, o que corresponde a 26% da área total para este fim (2). O *Eucalyptus globulus* popularmente conhecido como gomeiro azul, devido ao seu óleo essencial característico - o eucaliptol (1,8 – cineol) – é vastamente aplicado na indústria farmacêutica, alimentar, cosmética e perfumaria (3). É uma espécie de crescimento rápido e de curtos períodos de rotação, possui uma madeira constituída por fibras de comprimento curto e muito homogéneo, o que lhe confere características excecionais para a indústria da celulose.

Assim, o *Eucalyptus globulus* Labill tornou-se numa espécie com elevada importância económica, pondo Portugal em terceiro lugar no ranking de produção do *E. globulus*, pois é utilizado pelo setor madeireiro contribuindo para a diminuição da importação de madeiras tropicais. É a matéria-prima principal na produção de papel – destacando-se a sua utilização neste setor - devido ao seu alto rendimento fabril, baixo consumo de químicos nos processos de cozimento e de branqueamento da pasta para produção de papel.

Antes da produção de pasta a casca é removida devido ao seu elevado conteúdo em extratáveis e cinzas, (4), (5) e ao tipo de fibra (6) que constitui este material que o tornam desadequado para incorporar no processo de cozimento. A indústria da celulose e do papel, além de grande consumidora de reagentes químicos, é uma das maiores consumidoras de energia (7), e portanto há muito que a casca deixou de ser considerada um resíduo e passou a fazer parte integrante do processo, sendo utilizada como biomassa florestal. No entanto, esta utilização está muito aquém das suas potencialidades dada a sua composição em compostos de valor acrescentado (8) (9).

Utilizar a casca como biomassa como se faz atualmente significa desprezar uma riqueza imensa. Assim, a indústria portuguesa do papel que foi pioneira no uso da madeira de *Eucalyptus globulus*, para a produção de pasta, tem aqui uma oportunidade para vir a ser pioneira na utilização da casca na obtenção de produtos de valor acrescentado. Para isso é necessário desenvolver estudos de processos de extração e fracionamento de compostos da casca em paralelo e em articulação com estudos de caracterização estrutural detalhada e de atividade biológica das frações obtidas.

Com o presente trabalho pretende-se contribuir no âmbito do fracionamento/concentração de extratos obtidos a partir da casca de *E. globulus* utilizando o processo de separação por membranas.

1.2. Organização da Tese

Esta tese encontra-se organizada em cinco capítulos. No capítulo 1 apresenta-se o enquadramento e a motivação principal para o trabalho desenvolvido. No capítulo 2, apresenta-se o estado da arte, sobre a composição da casca do *E. globulus*, a valorização dos componentes extrativos da casca do *E. globulus* e os princípios teóricos acerca dos processos de separação por membranas devidamente referenciados. No capítulo 3, é apresentada a unidade experimental e o respetivo procedimento experimental bem como a descrição dos métodos de análise utilizados. No capítulo 4, são apresentados todos os resultados experimentais e respetiva discussão. No capítulo 5, são apresentadas as principais conclusões do trabalho desenvolvido.

2. Estado da Arte

2.1. A casca de *Eucalyptus globulus*

O xilema das árvores é onde se dá o transporte de água e sais minerais - seiva bruta – desde a raiz até às folhas e este é protegido contra as agressões físicas e biológicas pela casca. A formação da casca é iniciada em células com capacidade de divisão celular, designadas por câmbios, e é composta por duas zonas principais: a casca interna e a casca externa. Na casca interna, camada viva, ativa e localizada imediatamente ao lado do câmbio vascular, existe o floema que é responsável pelo transporte de seiva elaborada, produzida nas folhas através da fotossíntese, até às outras partes da árvore. A casca externa ou ritidoma, barreira de proteção, é constituída maioritariamente por células de floema mortas, e por isso, sem mais função de transporte de seiva elaborada, mas ainda assim, muito rica sob o ponto de vista de composição química.

O estudo da composição química da casca não é uma tarefa fácil, pois, além de variar bastante, entre famílias, género ou mesmo espécies, as condições ambientais de crescimento – localização geográfica, clima, tipo de solo - e a idade também influenciam bastante na sua composição química. Sendo a casca um tecido muito complexo, o seu processo de formação promove diferentes modelos de cascas.

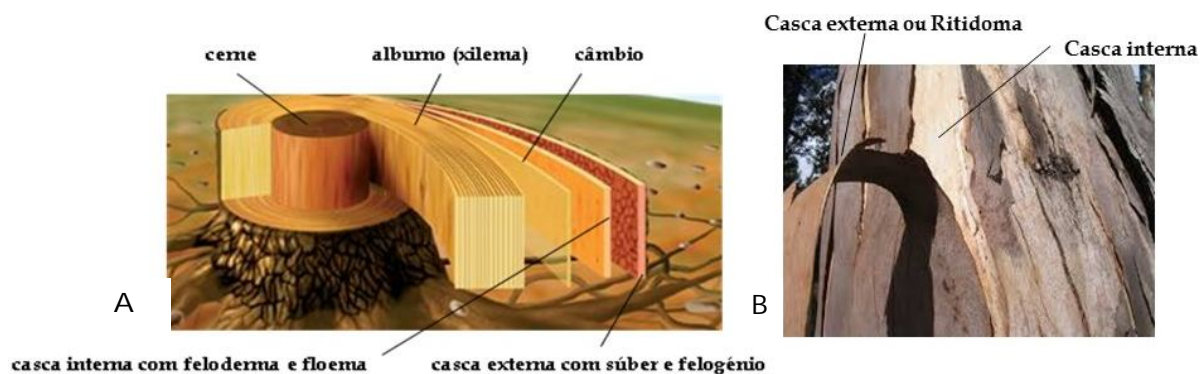


Figura 1 – Diferentes partes do tronco e casca do *E. globulus*. A. Representação esquemática das zonas morfológicas; B. Imagem da casca externa e casca interna

No caso do *Eucalyptus globulus* a casca externa separa-se em placas, é lisa, pouco espessa, acinzentada e brilhante e dada a sua riqueza orgânica e mineral, este fator tem contribuído na aposta em investigação para o conhecimento da composição química da mesma (10), (11), (12), (13), (14), (15). A parede das células que constituem a casca, tal como na madeira, são divididas em dois tipos de componentes: componentes estruturais e componentes não estruturais como sugere a Figura 2.

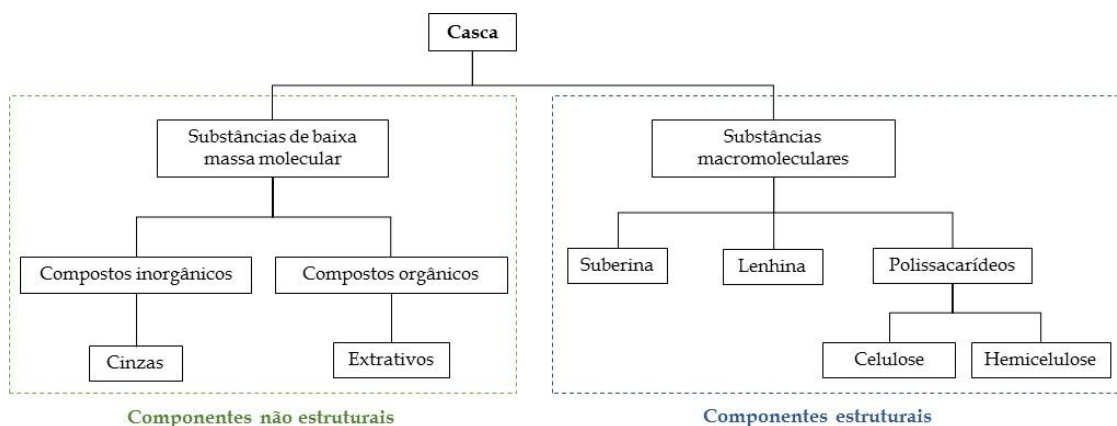


Figura 2 – Representação esquemática dos constituintes químicos da casca, adaptado de (16).

Os componentes estruturais das paredes celulares são macromoléculas, de natureza polimérica, insolúveis, que conferem às células a sua forma e grande parte das suas propriedades físicas e químicas. Os componentes não-estruturais são compostos de massa molecular pequena que não fazem parte da estrutura da parede celular e classificam-se como extrativos e cinzas (sais inorgânicos). Comparativamente às madeiras, as cascas têm em geral bastantes mais extrativos, menos polissacarídeos e teores de material inorgânico mais elevado (16).

2.1.1. Composição química da casca do *Eucalyptus globulus*

Na Tabela 1, apresenta-se uma síntese dos principais estudos feitos à composição química da casca do *E. globulus*. Entre os valores apresentados há diferenças significativas, o que corrobora o anteriormente exposto acerca da grande variabilidade das amostras devido às diferentes origens, idade da árvore e região morfológica da casca em estudo.

Tabela 1 - Síntese da composição química global (%m/m_{seca}) da casca do *E. globulus*.

Componentes estruturais (Substâncias Macromoleculares)			Componentes não-estruturais (Substâncias de baixa massa molecular)		Fonte
Polissacarídeos	Lenhina	Suberina	Cinzas	Extrativos	
62,8	22,3	-	1,0	8,0	(12)
62,5	16,7	-	4,74	12,4 ^a	(13)
67,2	26,4	1,0	12,8	0,96 ^b 0,26 ^c 1,43 ^d 4,58 ^e	(11)
79,7	16,9	-	2,9	6,6	(14)
62,6	26,6	1,0	12,1	6,5	(15)
71,42	19,34	-	2,35	2,19 ^f 0,71 ^b 2,76 ^g	(10)

^a soma das percentagens de extração com n-hexano, etanol, metanol e água, ^b Extração em diclorometano, ^cExtração em metanol, ^dExtração em etanol, ^eExtração em água, ^fExtração em etanol/tolueno, ^gExtração em metanol após extração em diclorometano.

Polissacarídeos

Os polissacarídeos são constituídos por celulose e hemicelulose. A celulose, o principal componente da parede celular dos vegetais e o composto orgânico mais abundante na natureza, é um homopolímero, constituído por monómeros de glucose na configuração de β -D-glucopirranose, ligados entre si por ligações glicosídicas entre o hidroxilo do carbono 1 de um dos monómeros e o hidroxilo do carbono 4 do monómero adjacente, pelo que a ligação é representada como β 1 \rightarrow 4. O conteúdo de celulose na casca de *E. globulus* referidos na bibliografia variam entre 41,6%, (13) e 54,9%, (12)

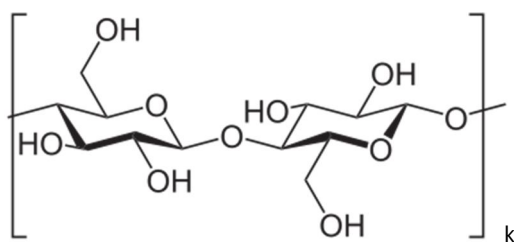


Figura 3 – Fórmula estereoquímica da Celulose: polímero de unidades β -D-glucopirranose ligadas por ligações glicosídicas β 1 \rightarrow 4. A unidade dimérica que se repete é celobiose (k entre 4000 e 5000).

As hemiceluloses são heteropolímeros, com um grau de polimerização baixo quando comparada à celulose, formando cadeias constituídas entre 50 a 200 unidades de açúcar, (17). Os principais constituintes das hemiceluloses são cinco açúcares neutros, três hexoses (glucose, manose e galactose) e duas pentoses (xilose e arabinose) podendo, ocasionalmente, algumas delas incluir ácidos urónicos, α -L-ramnose e α -L-fucose em muito pequenas quantidades, (16), (17). No caso do *Eucalyptus globulus*, a hemicelulose predominante é constituída por uma cadeia de xilose parcialmente acetilada, apresentando ramificações de ácido 4-O-metilglucurónico e galactose, (18). O teor em açúcares típicos de hemiceluloses quantificados na casca de *E. globulus* é cerca de 19%. (19).

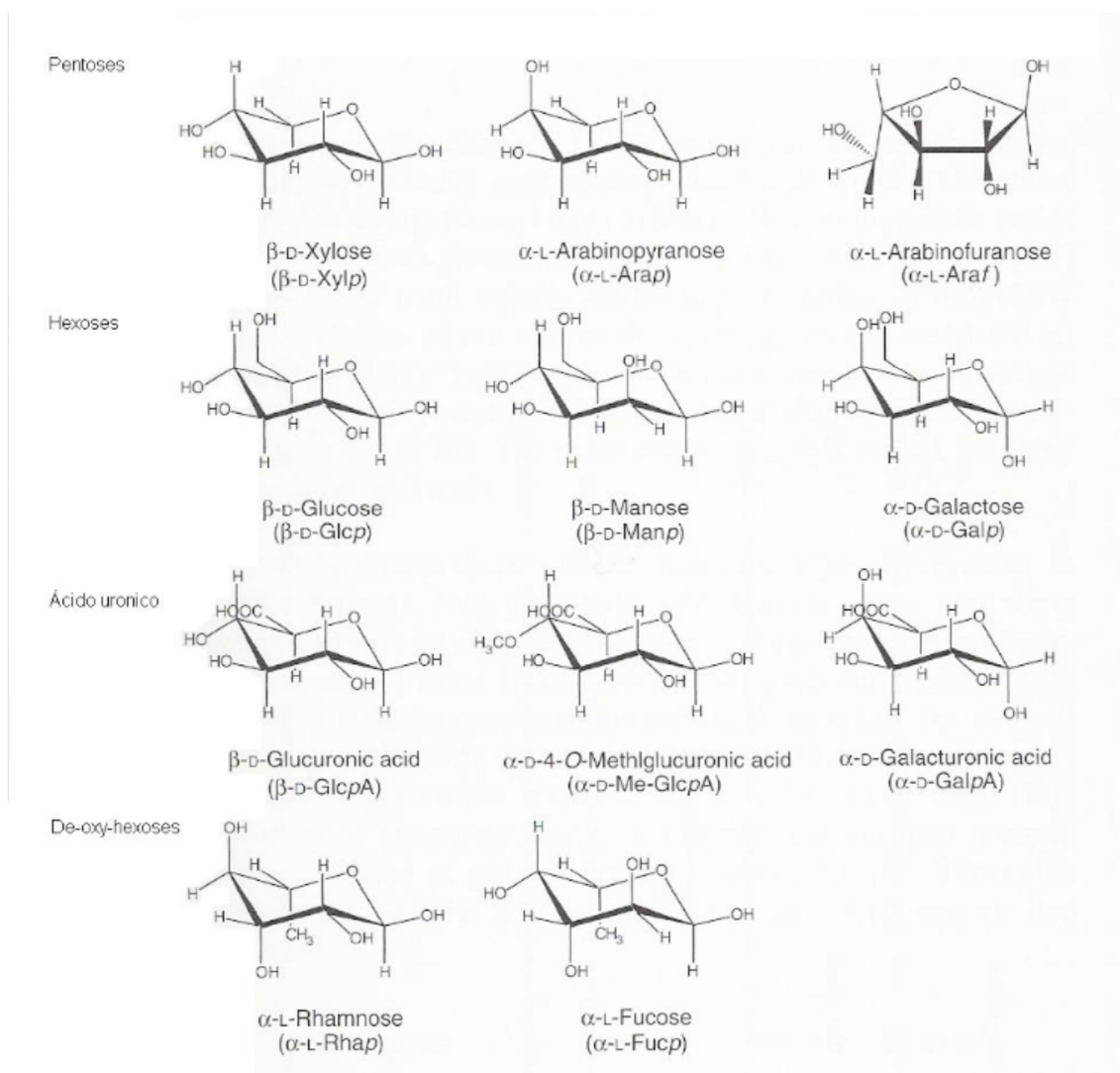


Figura 4 – Fórmulas estruturais dos principais monossacarídeos das hemiceluloses, retirado de (5).

Lenhina

A lenhina é um polímero natural exclusivo do reino vegetal; forma-se a partir da oxidação e subsequentes reações de polimerização de três monómeros do tipo fenilpropano, o *p*-álcool cumarílico, álcool coniferílico e álcool sinapílico - Figura 5. O anel aromático destes álcoois é denominado respetivamente por *p*-hidroxifenilo (H), guaiacilo (G) e siringilo (S). A lenhina encontra-se no tecido lenhoso diretamente associado à celulose e às hemiceluloses, com as quais estabelece ligações químicas pontuais. Atua como agente de ligação entre as células, conferindo rigidez e impermeabilidade à parede celular, tornando-a uma estrutura resistente ao impacto, à compressão e, até determinado grau, à flexão (16).

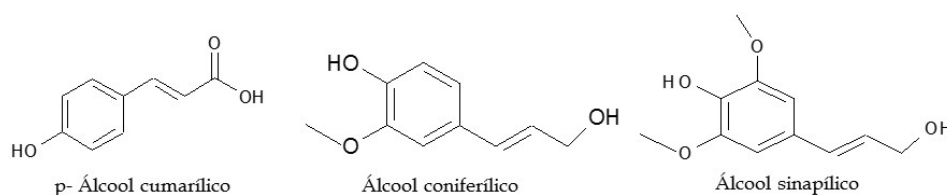


Figura 5 – Estrutura química das unidades precursoras da lenhina, (16).

Como podemos verificar na Tabela 1, o teor em lenhina varia entre 16,7% e 26,6%. No entanto, ao nosso conhecimento, não existem estudos relativos à proporção dos diferentes monómeros existentes na construção da macromolécula – lenhina - na casca do *E. globulus*.

Suberina

A suberina que desempenha um papel fundamental na impermeabilização das células devido à sua hidrofobicidade é uma macromolécula exclusiva da casca, e é constituída por monómeros ligados entre si por ligações éster, incluindo dois grupos principais de monómeros: o glicerol e os compostos alifáticos de cadeia longa, cuja estrutura tem afinidade com a dos ácidos gordos. Só muito recentemente foi identificada suberina na casca do *E. globulus* (11) e (15) mas em quantidades muito baixas.

Cinzas

Os componentes minerais – Na, K, Ca, Mg, Mn, etc. - da madeira e da casca surgem na forma de cinzas após combustão completa da matéria orgânica. Nas cascas o teor das cinzas é em regra bastante superior ao da madeira, apresentando uma elevada variação como se pode verificar na Tabela 1, pois depende da região morfológica da casca em estudo, já que, no geral a casca interna contém mais minerais do que a casca externa (20).

Extrativos

Os extrativos – componentes não estruturais da parede celular - são constituídos essencialmente por substâncias sintetizadas e depositadas na fase final da diferenciação das células. Advêm sobretudo do ritidoma pelo que a casca é mais rica em extrativos do que madeira (17) e englobam compostos químicos de muitas famílias – compostos lipofílicos (ácidos gordos, álcoois alifáticos, triterpénicos e esteróis), terpenos, açúcares livres, compostos fenólicos que se dividem em: i) compostos não-flavonóides como: ácidos fenólicos e aldeídos correspondentes; ácidos cinâmicos; lenhanos, estilbenos e taninos hidrolisáveis – galotaninos e elagitaninos ii) compostos flavonoides: flavonóis,

flavononas, flavanóis, flavonas, isoflavonas, antocianinas, antocianidinas e taninos condensados (também designados por proantocianidinas) (20). A Figura 6 apresenta a representação estrutural de alguns dos compostos enumerados.

Como se pode comprovar na Tabela 1 e, com maior detalhe na Tabela 2 a quantidade destes compostos no extrato está dependente do solvente utilizado durante a extração. Podemos ainda verificar que, a quantidade de extrativos obtidos com solventes polares é superior comparativamente à dos solventes não polares, o que leva a concluir que a natureza dos compostos extraíveis na casca de *E. globulus* é predominantemente polar. Os solventes não polares, como o diclorometano, extraem compostos não polares como gorduras, compostos resínicos e fenólicos menos polares. Os solventes mais polares, como o etanol e metanol, extraem compostos mais polares como os açúcares e compostos polifenólicos (21).

Neste trabalho será dada especial atenção aos compostos polifenólicos devido às suas numerosas propriedades químicas, biológicas, farmacológicas e potenciais utilizações (13), (22), (23). Na casca de *E. globulus* já foram identificados uma grande variedade e quantidade de compostos polifenólicos (24) – Figura 6. Entre os que se encontram em maior quantidade na fração de menor massa molecular são por exemplo, os ácidos fenólicos (ácido elágico, ácido gálico e ácido protocatequínico) (25); flavonóides (eriodictiol, taxifolina, isoramnetina-ramnosídeo); taninos hidrolisáveis - galotaninos e elagitaninos – (monogaloilglucose, digaloilglucose, ácido 3-O-metilelágico-3'-O- α -ramnopiranosídeo) e ainda proantocianidinas - taninos condensados – que são polímeros de 2 ou mais de 50 unidades de catequina e leucoantocianidina unidas entre si por ligações carbono – carbono (26), (27).

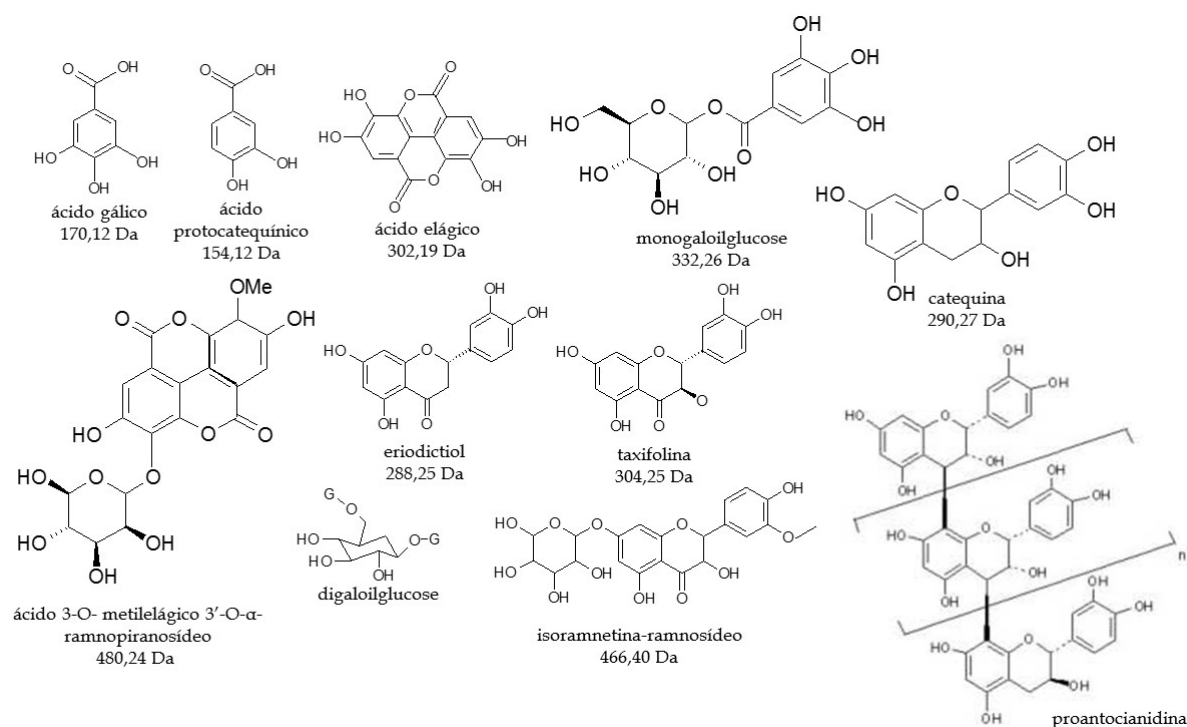


Figura 6 – Compostos fenólicos encontrados em maior quantidade nos extrativos da casca de *E. globulus* e respectivas massas molares.

Tabela 2 – Percentagens de extratáveis polares da casca do *E. globulus* e algumas propriedades.

Fonte	Meio de extração	Parâmetros			
		Rendimento de extração m%	Fenólicos totais extracto m%	Atividade anti-oxidante mmol _{EAA} /g _{extracto}	Número de Stiasny
(28)	Água	1,9	11,5	-	-
	Metanol	8,2	41,0	-	-
	Metanol/Água (1:1)	9,3	41,3	-	-
(29)	1,5% Na ₂ SO ₃		21,9	1,33	-
(30)	Água	6,8	18,9	0,91	37,6
	2,5% NaOH	10,8	8,77	0,23	23,5
	10% NaOH	18,9	5,40	0,16	16,5
(13)	Água	6,8	18,1	0,91	-
	Metanol	2,7	13,3	0,49	-
	Etanol	2,5	11,9	0,48	-
	Etanol/Água (1:1)	5,0	22,3	2,1	-
	Metanol/Água(1:1)	5,2	20,1	2,2	-
	2,5%Na ₂ SO ₃	8,6	18,6	0,91	-
(26)	Metanol/Água (8/2)	4,7-7,8	29,6-30,2 ¹	-	-
(31)	Metanol/Água (8/2)	4,5-12,3	22,7-41,6 ²	-	-

1 – quantificado em fração solúvel de éter etil e expresso em equivalentes de ácido gálico em extração metanol/água.

2 – quantificado em fração insolúvel de éter etil e expresso em equivalentes de quercetina em extração metanol/água.

2.2. Valorização dos Componentes Extrativos da Casca do *E. globulus*.

A casca do *E. globulus* é um resíduo com grande potencial de valorização, pela sua riqueza considerável em compostos fenólicos com atividade antioxidante. A indústria da pasta e papel tem condições de integrar uma unidade industrial de biorefinaria, onde podem ser extraídos compostos polifenólicos de elevado valor acrescentado antes da utilização da casca para valorização energética. Esta é uma forma a rentabilizar e valorizar ao máximo este recurso, indo, assim, ao encontro da sua estratégia de exploração sustentável e dos princípios verdes de extração de produtos naturais (32).

A extração é a primeira etapa num processo de valorização da casca. Em 2012, Mota e colaboradores (33) utilizaram uma técnica de planeamento experimental implementada por Box e Wilson, designada por Metodologia de Superfícies de Resposta com vista à otimização da extração de compostos polifenólicos a partir da casca considerando em simultâneo o efeito de diferentes variáveis independentes – tempo de extração, percentagem de etanol presente em solução e temperatura à qual ocorre a extração. Este desenho experimental foi realizado em função de variáveis dependentes do extrato como a quantidade de fenólicos totais, a atividade antioxidante, a quantidade de proantocianidinas, a quantidade de taninos condensáveis em formaldeído (através do número de Stiasny) e ainda a análise de açúcares. A Tabela 3 resume alguns dos resultados obtidos por estes autores.

Tabela 3 – Valores teóricos obtidos pela Metodologia de Superfície de Resposta e valores experimentais para as condições que correspondem ao ponto ótimo da curva e para as condições com o IC₅₀ mais baixo em (33).

Ensaio	Valores	Extrativos %m/m _{casca}	Fenólicos totais %m _{ác.gálico} /m _{ext}	Atividade Antioxidante mmol _{ác. ascórbico} /g _{ext}	Proantocianidinas %m _{ext. mimosa} /m _{ext}	Açúcares totais %m _{AT} /m _{ext}	Número de Stiasny	IC 50 µg/mL
t = 264 min T = 82,5 °C %EtOH = 52 %	Teórico ⁽¹⁾	5,2	32,3	2,08	14,0	22,7	37	176,369
	Experimental	5,2	30,4	2,16	14,2	21,2	40	
t = 360 min T = 82,5 °C %EtOH = 80 %	Teórico ⁽¹⁾	5,1	27,7	1,8	11,3	19,1	41,1	91,921
	Experimental	4,3	25,9	1,8	13,9	18,7	44,5	

(1) – valor obtido através do modelo desenvolvido: modelo de superfície de resposta

Os autores referem as condições 264 min, 82,5°C e 52% (V/V) em etanol como as condições ótimas para maximizar a extração de compostos polifenólicos na casca do *E.globulus*. No entanto, há outras condições de extração que suscitam muito interesse devido ao coeficiente de inibição de 50% de crescimento de células cancerígenas (IC₅₀) do extrato obtido que é o mais baixo de todos. Assim, devido a esta particularidade decidiu-se utilizar extratos obtidos nestas condições de extração para o estudo da sua concentração utilizando o processo de separação por membranas.

2.3. Fracionamento e Concentração de Extratos obtidos a partir da casca do *E. globulus* por Processos de Membranas.

Dada a riqueza em bio-produtos de valor acrescentado nos extratos obtidos a partir da casca do *Eucalyptus globulus* (9), tornou-se urgente a aposta em processos sustentáveis que permitam a recuperação desses mesmos compostos. Os processos de separação por membranas têm-se destacado como alternativas bastante promissoras aos processos clássicos de separação (34) (35) (36) (37), uma vez que oferecem vantagens no que concerne ao consumo de energia, especificidade e facilidade em adaptação à escala industrial (38) contribuindo, deste modo, para valorizar a biomassa enquadrando-se na perspetiva dos princípios verdes da engenharia (39). A aposta em investigação por parte das biorrefinarias (40) neste tipo de processo tem aumentado, mas há, no entanto, um longo caminho a percorrer, para o qual este trabalho pretende contribuir.

2.3.1. Definição e Classificação das Membranas

O que distingue o processo de separação de membranas das demais técnicas de separação é a utilização de uma outra fase, a membrana. Esta barreira (sólida, líquida ou gasosa) tem a capacidade de transportar determinados componentes mais eficazmente, retendo outros que fazem parte da mistura de alimentação constituindo assim uma barreira permeável e seletiva que restringe a transferência de massa entre duas fases. O tipo de material que as constituem e as estruturas microscópicas que apresentam determinam as interações membrana/solvente/soluto(s) e a ocorrência de transporte preferencial de certos componentes de uma mistura solvente/soluto(s) e por isso originam vantagens de eficiência e seletividade.

No processo de separação por membranas, a corrente de alimentação com concentração do soluto C_f é alimentada em escoamento tangencial ao longo da superfície da membrana e divide-se em duas correntes, o concentrado ou retentado e o permeado. A corrente de retentado é essencialmente constituída por partículas e solutos rejeitados pela membrana, cuja concentração é superior à concentração desse mesmo soluto na corrente de alimentação. Assim, o desempenho ou eficiência de uma membrana pode ser determinada pelo parâmetro - coeficiente de retenção.

$$R = 1 - \frac{C_p}{C_f}$$

Com, R – coeficiente de retenção da membrana para um determinado soluto, C_p – concentração do soluto no permeado ou filtrado e C_f – concentração do soluto na alimentação. Além deste parâmetro a membrana é também avaliada pelo fluxo ou velocidade de permeação, que é definido como o volume de solução que atravessa a membrana por unidade de área e por unidade de tempo.

De um modo geral, as membranas podem ser classificadas de acordo com a sua natureza e estrutura ou morfologia, mecanismo de separação e aplicação, como sugere a Figura 7.

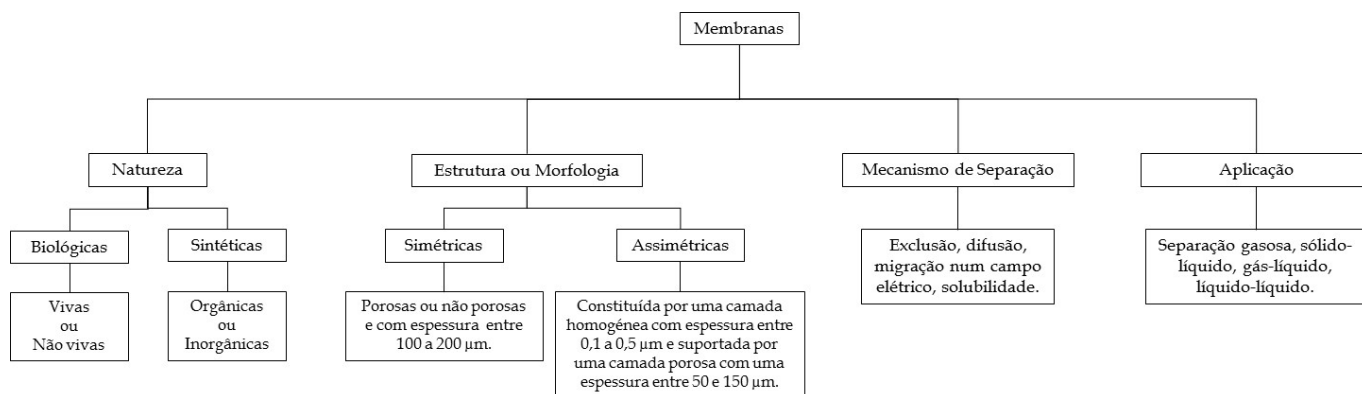


Figura 7 – Classificação das membranas, adaptado de (38) e (41).

O transporte de espécies selecionadas pela membrana é conseguido através da aplicação de uma força motriz – gradientes de pressão, concentração, potencial elétrico ou temperatura – através da membrana.

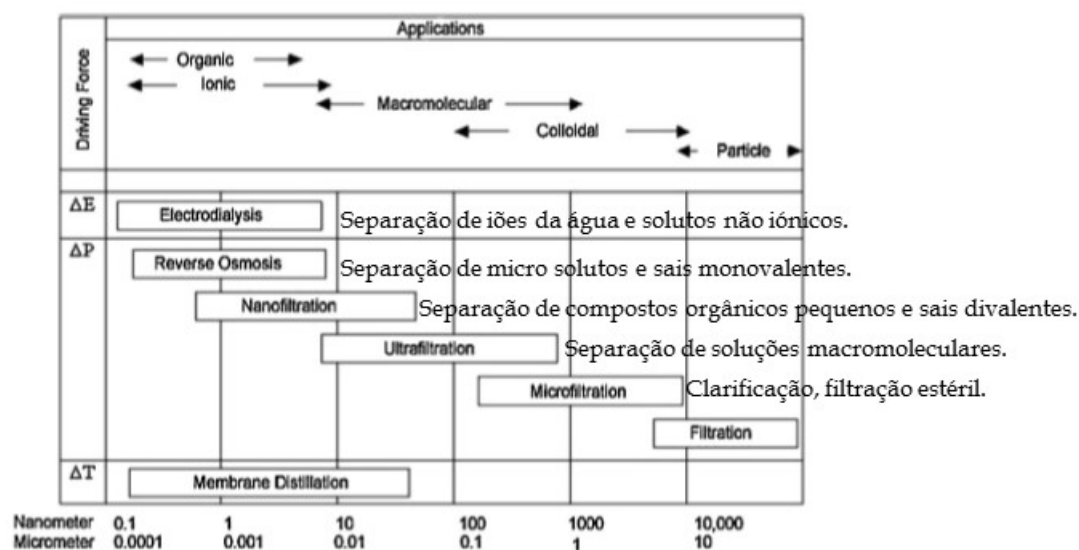


Figura 8 – Intervalos de aplicação dos vários processos de separação por membranas e alguns exemplos das suas aplicações, imagem retirada de (42) e informações adaptadas de (38) e (41).

Estes processos de separação por membranas - Figura 8 - realizam-se a diferentes condições operatórias e as membranas apresentam diferentes características morfológicas e de retenção, sendo por isso, escolhidas consoante os objetivos do tratamento a aplicar. Além da escolha do tipo de membrana a utilizar e das condições operatórias, há ainda a seleção da configuração que suporta a membrana mais adequada a uma determinada aplicação. Atualmente existem diversas configurações no mercado (tipo planar, tubular, fibras ocas e em espiral) o que torna necessário

estabelecer critérios como compactação, preço, facilidade de limpeza, controle da transferência de massa adjacente à membrana e o tipo de aplicação, para facilitar a escolha adequada do tipo de configuração a utilizar no processo de separação que se pretende realizar.

A força motriz, tipo de membrana, configuração do módulo e condições operatórias proporcionam diferentes mecanismos de ação e, conseqüentemente, permitem a aplicação do processo de separação por membranas a uma vasta gama de dimensões de partículas e num largo campo de utilizações, como se pode confirmar pela Figura 8.

A aplicação das operações de separação com membranas conduzidas por diferença de pressão é normalmente feita tendo em vista a remoção de matéria, concentração e aproveitamento de matérias-primas no concentrado e fracionamento de correntes. A remoção de matéria no concentrado utiliza-se com o objetivo de obter um permeado com um teor reduzido de matéria orgânica ou de sais passível de ser recirculado no processo. Aplica-se normalmente em dessalinizações totais ou parciais de águas através de osmose inversa e nanofiltração. A concentração de correntes serve fundamentalmente quando se pretende recuperar um composto de valor acrescentado e reutilizá-lo no processo, como por exemplo, recuperação de álcool polivinílico na indústria têxtil e concentração e recuperação de proteínas no tratamento de soro de queijo (38). Por último, o fracionamento de correntes visa à separação seletiva de compostos.

Devido à sua crescente e bem-sucedida utilização em fracionamento e concentração de compostos polifenólicos (34), (35), (36), para o presente trabalho, optou-se pela utilização de um processo de separação por membranas por ultrafiltração (UF). Para isso foram adquiridas membranas comerciais assimétricas de diferentes tipos de polímeros e também de valores de corte molecular (*cut-off*) distintos, numa configuração planar, a fim de estudar a influência das condições operatórias na concentração de extratos vegetais obtidos a partir da casca do *E. globulus*. Pretendeu-se analisar as diferentes contribuições relacionadas com a resistência da membrana para o declínio do fluxo de permeação ao longo do tempo, que é uma das limitações mais severas à utilização deste tipo de processo de separação.

2.3.2. Caraterização de Membranas de Ultrafiltração

Os processos de separação por membranas podem ser utilizados numa grande variedade de soluções. Assim, a caraterização das membranas revela-se de grande importância uma vez que devem facultar dados relativos à morfologia e às propriedades químicas da mesma, para facilitar a seleção de uma membrana específica para a resolução de um problema específico. Existem várias técnicas disponíveis para a caraterização morfológica e química das membranas.

Os métodos de caraterização morfológica pressupõem a determinação de parâmetros relacionados com a estrutura (tamanho do poro, distribuição dos tamanhos, espessura da camada de topo e porosidade superficial) e, ainda, a determinação de parâmetros relacionados com a permeação utilizando solutos-padrão (medidas de *cut-off* e raio de poro) e determinação hidráulica. No presente trabalho, devido ao tempo disponível, apenas foi efetuada a caraterização morfológica das membranas através da determinação da permeabilidade da mesma uma vez que é um método simples e não pressupõe a utilização de equipamento sofisticado como outros métodos referidos.

As propriedades químicas e elétricas da membrana condicionam as interações membrana-soluto-solvente, pelo que, o conhecimento da carga da membrana, do caráter ácido/básico e da hidrofília/hidrofobicidade torna-se fundamental no desempenho dos processos de separação por membranas. Para o trabalho que se apresenta foram tidas em conta as informações facultadas pelos fabricantes das membranas tal como apresentado na secção 3.3.3.

2.3.3. Transporte pelas Membranas Porosas

Os modelos de transporte são ferramentas essenciais pois permitem a previsão da eficiência da ultrafiltração. O transporte pela membrana deve-se à força motriz que atua sobre os componentes da alimentação. Em muitos casos a razão de permeação pela membrana é proporcional à força motriz, isto é, a relação entre o fluxo e a força pode ser descrita por uma equação linear. A proporcionalidade entre o fluxo (J) e a força motriz é dada por:

$$J = -A \frac{dX}{dx}$$

Onde A é o coeficiente de permeação e $\frac{dX}{dx}$ é a força motriz expressa como gradiente de X (temperatura, concentração, pressão) ao longo da coordenada x perpendicular à barreira de transporte.

Quando a força motriz é a pressão e as soluções contêm solutos de baixo peso molecular a pressão osmótica da solução é normalmente elevada, e portanto, para que ocorra fluxo de permeado a pressão externa aplicada terá de ser superior à pressão osmótica. Assim, a equação que permite relacionar a diferença de pressão na membrana - ΔP (Pa), a diferença de pressão osmótica na solução de alimentação, $\Delta \pi$ (Pa) e o fluxo volumétrico de permeado através da membrana, J_p , ($\text{m}^3 \text{m}^{-2} \text{s}^{-1}$) é a seguinte:

$$J_p = L_p (\Delta P - \Delta \pi)$$

Em que L_p é a permeabilidade da membrana. No entanto, no caso da ultrafiltração, os solutos são de peso molecular mais elevado e o efeito da pressão osmótica é normalmente desprezado e portanto a relação entre a pressão aplicada na membrana e o fluxo volumétrico é linear, sendo possível determinar a permeabilidade da membrana através do declive da correspondente curva do fluxo volumétrico do permeado em função da diferença de pressão na membrana.

Repare-se no entanto que no modelo apresentado é assumido que a concentração de alimentação no seio da solução é considerada aproximadamente igual à concentração na parede da membrana, o que nem sempre é verdade devido ao fenómeno de polarização por concentração. Na Figura 9 encontra-se ilustrado o efeito geral da pressão no fluxo de permeado. Assim, para condições em que os efeitos de polarização por concentração são mínimos, ou seja, a baixas pressões, baixas concentrações na alimentação e elevadas velocidades na alimentação, o fluxo será apenas afetado pela pressão, e por isso verifica-se uma relação linear entre as duas grandezas e que é traduzida pela equação anterior, com $\Delta \pi = 0 \text{ Pa}$, designada como região controlada pela pressão. Para pressões elevadas começa a observar-se desvios à relação linear entre o fluxo de permeado e a pressão, devido à consolidação da camada de polarização por concentração de soluto e passamos para uma região controlada pela transferência de massa na camada adjacente à membrana.

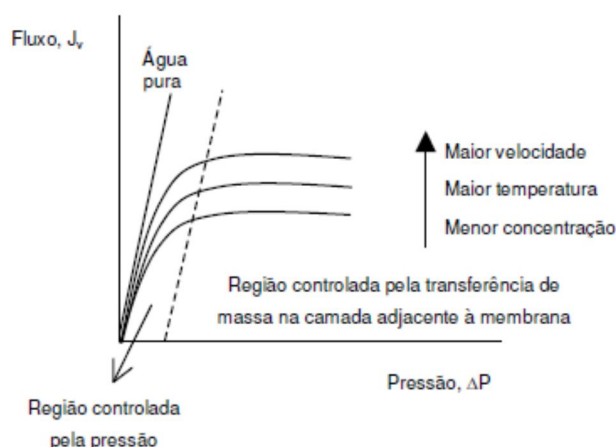


Figura 9 – Fluxo do permeado em função da pressão onde se encontram destacadas a região controlada pela pressão e a região controlada pela transferência de massa na camada adjacente à membrana – esquema adaptado de (41).

Durante a ultrafiltração observa-se um declínio no fluxo de permeado ao longo do tempo, que pode ser muito severo, pode ser menos de 5% do fluxo com água pura devido a uma série de fenômenos como alteração das propriedades da membrana, mudança nas características da alimentação e, principalmente, devido à polarização por concentração, formação da camada de gel e *fouling* irreversível. A polarização por concentração ocorre devido ao desenvolvimento de um perfil de concentrações do soluto rejeitado desde a superfície da membrana até ao seio da alimentação. Como consequência, formar-se-á uma camada concentrada na interface da mesma que oferecerá uma resistência adicional à transferência de massa. Este fenómeno depende das condições de operação e das características da membrana estando diretamente relacionado com a velocidade de permeação, a concentração dos solutos e a rejeição das membranas. Outros fenómenos do processo, tais como as interações entre os solutos e a membrana, o pH do meio, o tamanho e a morfologia da própria membrana, contribuem para o aparecimento de resistências adicionais provocadas pela obstrução dos poros e pela adsorção de solutos à superfície dos poros da membrana. Este fenómeno é designado frequentemente por *fouling* ou colmatção irreversível, enquanto que a polarização por concentração e a camada gel surgem frequentemente na literatura com a designação de *fouling* reversível.

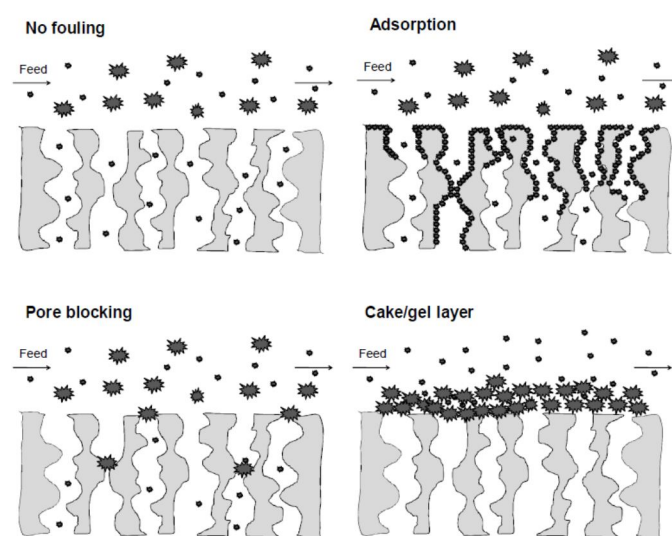


Figura 10 – Mecanismos de *fouling* na membrana, retirado de (43).

Na Figura 10, encontram-se representados os diferentes mecanismos de *fouling* na membrana, que além de contribuírem para a diminuição de seletividade da membrana também contribuem para a diminuição de produtividade das mesmas e consequentemente contribuem para o aumento dos custos de operação, (44). Para melhor compreensão do efeito dos diferentes mecanismos de *fouling* na diminuição do fluxo de permeado ao longo do tempo na Figura 11 encontra-se uma representação esquemática do fluxo de permeado em função do tempo durante a separação por ultrafiltração.

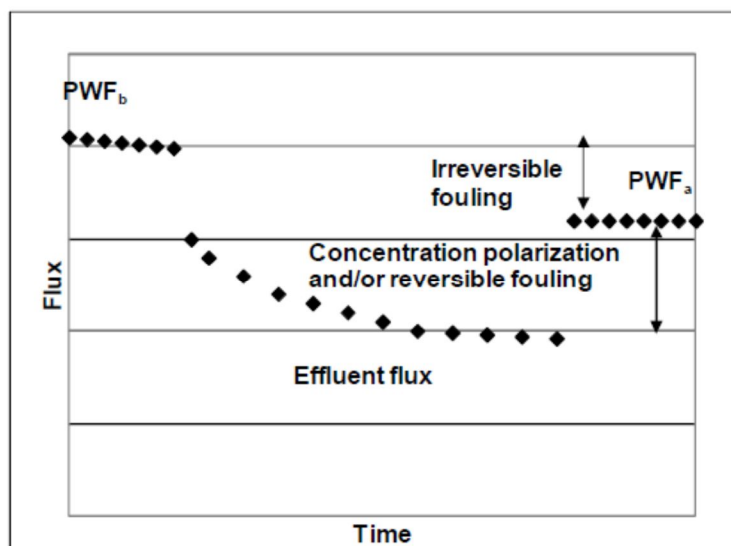


Figura 11 – Representação esquemática do fluxo de permeado ao longo do tempo antes da separação, durante a separação e depois da separação, retirado de (43).

Na Figura 11 podemos ver o fluxo de água pura (PWF_b), a diminuição exponencial do fluxo de permeado ao longo do tempo devido à formação de *fouling* quando se inicia a separação, e as consequências no fluxo de água pura após a separação (PWF_a), devido à presença de *fouling* irreversível. A formação de *fouling* tem consequências nefastas no processo de separação por membranas, mas note-se no entanto, que a formação da zona de polarização e da camada gel podem ser minimizadas através do aumento da velocidade de escoamento tangencial devido ao aumento da turbulência. O efeito de mistura, nas proximidades da superfície da membrana, arrasta uma parte significativa dos solutos acumulados, na maioria das vezes por adsorção, reduzindo a espessura da camada gel e aumentando a velocidade de permeação. O *fouling* também pode ser controlado através de outros procedimentos como a aplicação de gradientes de pressão mais reduzidos ou atuando a nível da composição química das membranas de forma a alterar as interações soluto-superfície da membrana.

Existem na literatura (38) (41), diversos modelos matemáticos que tentam descrever o mecanismo de transporte através de membranas. Para ultrafiltração geralmente são utilizados os seguintes modelos: o modelo do filme, o modelo da pressão osmótica e o modelo das resistências em série.

No modelo do filme considera-se que se forma uma camada à superfície da membrana onde a concentração de soluto é máximo e os mecanismos de transferência de massa são baseados em três fluxos: o fluxo convectivo em direção à membrana, o fluxo do soluto através da membrana e o fluxo difusivo da membrana para a solução. No modelo da pressão osmótica, a redução de fluxo de permeado resulta da redução na pressão transmembranar eficaz, devido ao aumento da pressão

osmótica no retentado. No modelo de resistências em série o fluxo de permeado diminui devido às resistências causadas por obstrução dos poros, à adsorção, à polarização por concentração e à formação da camada gel e assim o fluxo através da membrana assume a seguinte forma:

$$Fluxo = \frac{Força\ Motriz}{Viscosidade \cdot Resistência\ total}$$

Nos processos conduzidos sob o gradiente de pressão como é o caso da ultrafiltração a equação anterior pode ser traduzida pela Lei de Darcy:

$$J = \frac{\Delta P}{\mu \cdot R_{total}}$$

Onde,

J – Fluxo volumétrico, $m^3 \cdot m^{-2} \cdot s^{-1}$

ΔP – Diferença de pressão na membrana, Pa

μ – viscosidade dinâmica da solução, Pa · s

R_{total} – Resistência total, m^{-1}

No caso da passagem da água pura através da membrana, somente a resistência da membrana fica envolvida, no entanto, no caso concreto de uma separação, a resistência total é igual ao somatório de várias resistências que irão contribuir de uma maneira diferente para a resistência total ao fluxo de permeado.

$$R_{total} = R_m + R_a + R_p + R_g + R_{pc}$$

Com,

R_m – Resistência intrínseca da membrana, m^{-1}

R_a – Resistência causada pela adsorção, m^{-1}

R_p – Resistência causada pela obstrução dos poros, m^{-1}

R_g – Resistência da camada gel, m^{-1}

R_{pc} – Resistência devido à polarização por concentração, m^{-1}

Deste último método destaca-se a facilidade em relacionar o fluxo do permeado ao longo da separação com as condições operatórias, além de permitir determinar facilmente as resistências devido ao *fouling* interno e ao *fouling* externo daí a adoção do mesmo no tratamento dos resultados experimentais obtidos ao longo do trabalho.

3. Procedimento Experimental

3.1. Extração sólido-líquido da casca do *Eucalyptus globulus* com solução de 80% (V/V) etanol nos reatores M/K.

A casca de *E. globulus* foi seca ao ar e preparada para as extrações que foram realizadas em dois reatores M/K descontínuos com recirculação e com controlo de tempo e temperatura, em escala semi-piloto, no instituto RAIZ. Na alimentação dos reatores a razão líquido-sólido foi mantida constante e igual a 4:500 g de casca (base seca). Após a determinação da humidade da casca calculou-se o volume de solvente necessário a adicionar de forma a perfazer 4L de meio extrativo com 80% (V/V) de etanol. O ar dentro dos reatores foi substituído por azoto criando-se assim uma atmosfera inerte durante a extração da casca. A velocidade de aquecimento programada foi de 2 °C/min e, depois de alcançada a temperatura de 82,5°C, deu-se início à contagem do tempo de extração, 360 min. Estas condições foram as correspondentes à obtenção do extrato com menor coeficiente de inibição de 50% de crescimento das células cancerígenas (IC₅₀) face aos restantes extratos estudados e, como tal, um extrato promissor sob o ponto de vista de concentração de compostos polifenólicos antioxidantes.



Figura 12 – Reatores MK utilizados nas extrações de casca de *Eucalyptus globulus* – instituto RAIZ.

No final de cada extração, após despressurização, recolheu-se o extrato até temperatura ambiente utilizando uma serpentina de refrigeração. Em seguida, as partículas em suspensão provenientes do arrastamento físico da casca foram removidas por filtração com uma malha de rede e procedia-se ao desarejamento com N₂. Todos os extratos foram conservados congelados até à sua permeação.

3.2. Unidade de ultra/nanofiltração – Instalação experimental

Neste trabalho foi utilizada uma instalação laboratorial apresentada na Figura 13, cujo esquema se apresenta na Figura 14, e que é constituída por uma bomba de deslocamento positivo do tipo diafragma, um banho de circulação de refrigeração/aquecimento, sistemas de controlo da velocidade e da pressão e uma célula de permeação que permite operar em nanofiltração e ultrafiltração.



Figura 13 – Instalação de ultra/nanofiltração.

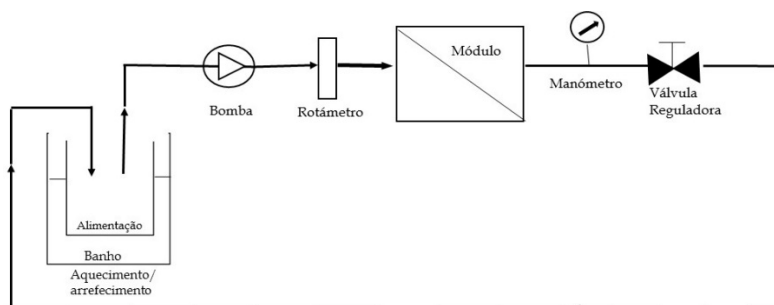


Figura 14 – Representação esquemática da instalação de ultrafiltração.

O modo de operação durante os ensaios experimentais decorreu em reciclo total, pelo que o tanque de alimentação utilizado foi um frasco SCHOTT® de 1 L, mergulhado num banho de circulação de refrigeração/aquecimento da Lauda (Ecoline Staredition Re 206). A temperatura do extrato foi monitorizada por um termómetro digital da marca VT-5 S40, VWR, com 0,1 °C de precisão. A pressão do sistema e a circulação da alimentação foram asseguradas pela bomba de diafragma Hydra-Cell, modelo M-3/G-13, (Wanner Engineering, Inc.), montada a seguir ao tanque de alimentação. A pressão do sistema foi regulada por uma válvula (4) que se encontra à saída da célula de permeação e lida num manómetro (6) com uma gama de operação de 0 – 10 bar com 0,2 bar de precisão. O caudal de circulação foi monitorizado por um rotâmetro, graduado em Lpm (litros por

minuto). O ajuste do caudal de circulação bem como a pressão do sistema foram regulados recorrendo ao sistema acoplado à bomba e à válvula que se encontra à saída da célula, visto estas duas válvulas serem interdependentes.

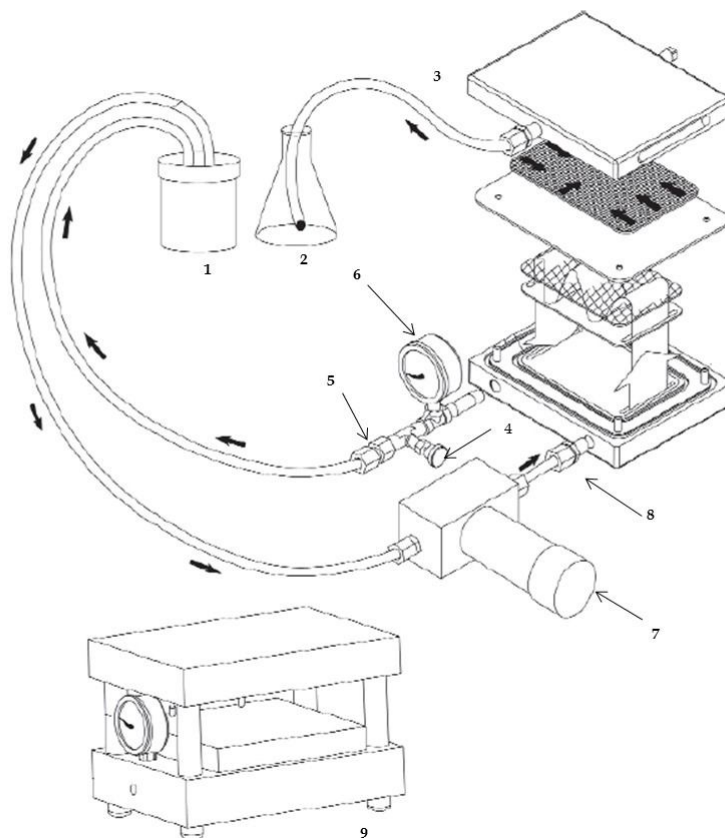


Figura 15 – Célula de permeação. Desenho adaptado de *GE Osmonics*.

- 1- Recipiente de alimentação, 2- Permeado, 3- Saída de permeado, 4- Válvula de Controlo se saída de concentrado, 5- Saída de concentrado, 6- Manómetro, 7- Bomba, 8- Entrada da alimentação, 9- Suporte de célula de permeação.

A célula de permeação - Figura 15 – designada como SEPA CF II pela *GE Osmonics*, é de configuração planar com uma área efetiva para a permeação de 14 cm², pressão máxima de 69 bar, temperatura máxima de 177 °C e suporta qualquer valor de pH de solução.

3.3. Procedimento seguido nos ensaios de permeação do extrato.

Para o estudo do fracionamento do extrato MK8, obtido a partir da casca do *E.globulus*, e nas condições de operação anteriormente referidas, foram primeiramente selecionadas diferentes membranas de ultrafiltração que, após permeação do respetivo extrato, foram avaliadas quanto à rejeição de compostos polifenólicos, fouling e necessidade de ciclos de lavagem após separação.

3.3.1. Membranas selecionadas e principais caraterísticas fornecidas pelos fabricantes

Os diferentes ensaios experimentais foram realizados com quatro membranas comerciais planas de polímeros e *cut-offs* moleculares distintos e cujas principais caraterísticas se encontram na Tabela 4

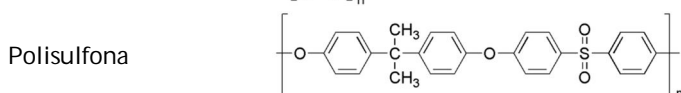
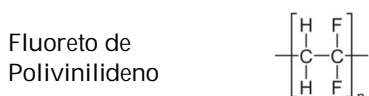
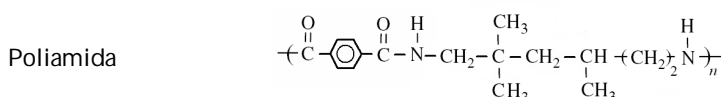
Tabela 4 – Especificações fornecidas pelos fabricantes das membranas estudadas.

Membrana	MWCO /Da	Fabricante	Tipo	Camada seletiva	pH	T _{max} / °C
GE	1000	GE Osmonics	UF	Composito de Poliamida (PA)	2 - 11	
PLEAIDE	5000	Orelis Environnement	UF	Poliétersulfona (PES)	3 – 14	50
JW	30 000	GE Osmonics	UF	Fluoreto de Polivinilideno (PVDF)	1 – 11	75
EW	60 000	GE Osmonics	UF	Polissulfona (PS)	0,5 - 13	

Notas:

MWCO – Molecular weight cut-off (valor de corte molecular)

UF - Ultrafiltração



3.3.2. Acondicionamento das membranas

De forma a não influenciar a integridade das membranas permitindo assim o seu bom desempenho durante a permeação do extrato, foi tido em consideração um correto acondicionamento das mesmas, seguindo-se as sugestões das referências bibliográficas (45) e (46), e as indicações fornecidas pelos fabricantes das membranas.

As membranas que foram utilizadas a primeira vez foram lavadas com água para a remoção de conservantes; posteriormente, foram acondicionadas à temperatura ambiente e à pressão atmosférica durante a noite ou pelo menos 12 horas numa solução em que a %(V/V) de etanol presente em solução era aumentada em porções graduais não superiores a 20% até perfazer os 80% (V/V) em etanol, tal como a solução do extrato a permear. Assim, uma membrana nova era acondicionada em soluções de 20%, 40%, 60% e 80% (V/V) em etanol com uma duração mínima de 12 horas, entre soluções, até ficar pronta para utilização; depois de utilizadas e devidamente lavadas as membranas foram novamente acondicionadas em solução de etanol a 80% (V/V).

3.3.3. Caracterização das Membranas – permeabilidade aos solventes.

De forma a complementar a informação fornecida pelos fabricantes e porque o seu conhecimento é relevante para avaliar o desempenho das membranas no processamento do extracto foram realizados ensaios experimentais no sentido de conhecer a permeabilidade da membrana à água pura – permeabilidade hidráulica – e a sua permeabilidade à solução etanólica utilizada durante a extração. A temperatura de operação foi de 35°C e caudal de circulação de 4,5 Lpm.

Após o acondicionamento, iniciou-se a compactação das membranas. A compactação é uma fase obrigatória do procedimento operativo de qualquer instalação pois tem por objetivo minimizar alterações na estrutura das membranas durante os ensaios. Esta etapa consistiu na permeação de água pura ou solução etanólica (conforme a solução de trabalho a utilizar em seguida) a uma pressão de fecho da célula (através da bomba hidráulica) cerca de 10-15 bar superior à de trabalho e aplicando pressão transmembranar de cerca de 1 bar. Numa segunda fase, com nova solução, prosseguiu-se a compactação a pressão transmembranar cerca de 20% superior à de trabalho durante um período de 3 horas. Durante os ensaios experimentais para a determinação das permeabilidades foi utilizado o mesmo procedimento como vem descrito na secção 3.3.5 para o arranque do sistema.

Após compactação da membrana, iniciaram-se os ensaios. Para isso, ajustou-se a pressão do sistema na válvula (4) - Figura 15 até ao valor requerido e deixou-se o sistema estabilizar durante alguns minutos. Após este período de tempo recolhia-se permeado numa proveta, durante um determinado intervalo de tempo permitindo assim medir o caudal volumétrico de permeado para a pressão em questão. Este processo foi repetido no mínimo, para cinco pressões diferentes. Com os valores experimentais obtidos aplicou-se a Lei de Darcy, como vem exemplificado no Anexo 1 para a determinação da respetiva permeabilidade.

3.3.4. Preparação do extrato para permeação

Os extratos descongelados foram colocados num banho à temperatura de 35°C – temperatura à qual ocorria a permeação – de forma a garantir que todos os sólidos solúveis a essa temperatura permanecessem na alimentação. Posteriormente o extrato era filtrado a vácuo com filtros de vidro de 10 µm.

3.3.5. Permeação do extrato

Após a colocação da membrana na célula, cuja parte ativa era colocada virada para baixo e montada segundo o esquema da Figura 15, o procedimento seguido em cada ensaio experimental seguia basicamente quatro etapas, arranque da instalação, período de estabilização, período de recolha de amostras e paragem do ensaio.

Arranque da instalação

Antes de se colocar a bomba a funcionar, a válvula que permite regular a pressão transmembranar (4 - Figura 15) era completamente aberta, para evitar delaminagem/deterioração das membranas quando a bomba fosse ligada. O tanque de alimentação imerso no banho de refrigeração/aquecimento e, por sua vez, o sensor de temperatura imerso tanque de alimentação de forma a garantir a monitorização permanente desta variável. Após a colocação da bomba em funcionamento ajustava-se o caudal de circulação, no variador de velocidade da bomba e verificando o mesmo no rotâmetro; ajustava-se ainda a pressão do sistema para o valor desejado na válvula referida anteriormente.

Ensaio com o extrato em modo de reciclo total

Após o arranque do sistema, a pressão foi inicialmente ajustada para 3 bar e o caudal para 4,5 Lpm, assim que estas variáveis se encontravam conformes, começou-se logo a monitorizar o fluxo volumétrico do permeado ao longo do tempo, como se pode verificar da Figura 16 à Figura 19. Para a monitorização do fluxo volumétrico do permeado em função do tempo, procedia-se à recolha de uma amostra do permeado numa proveta durante um intervalo de tempo cronometrado, sendo este devolvido à alimentação logo em seguida. O fluxo volumétrico do permeado era calculado através da seguinte equação:

$$J_P = \frac{V_r}{t \times A_m}$$

Onde J_p corresponde ao fluxo volumétrico do permeado em $Lm^{-2}h^{-1}$, V_r volume de permeado recolhido em L, t é o tempo de recolha do permeado em h e A_m é a área da membrana em m^2 .

À medida que se ia monitorizando o fluxo volumétrico do permeado em função do tempo, foi-se calculando a percentagem de declínio do mesmo. Estabeleceu-se-se como critério para o estado estacionário uma percentagem de decréscimo do fluxo inferior a 10%, sendo então neste momento que as amostras eram recolhidas. Após a recolha das amostras com o sistema a 3 bar a pressão foi aumentada para 5 bar e em seguida para 8 bar, mantendo a monitorização do fluxo volumétrico do permeado, caudal de circulação a 4,5 Lpm e recolhendo amostras uma vez atingido cada regime estacionário. Os ensaios foram realizados a diferentes pressões com o propósito de estudar a influência da pressão no fluxo e na retenção de compostos. Os ensaios foram realizados em série e por isso sempre que uma nova fase estacionária era atingida (e antes de passar para a seguinte) a pressão transmembranar era ajustada até ao valor de pressão imediatamente anterior para verificar a ocorrência de *fouling* irreversível, tal como descrito por Díaz-Reinoso e colaboradores em (35).

Período de recolha de amostras

Para cada ensaio foi sempre recolhida uma amostra da alimentação e para cada pressão de operação (3 bar, 5 bar e 8 bar) foram recolhidas duas amostras, uma do permeado e outra do retentado. Os volumes de permeado e de retentado retirados para análise foram aproximadamente de 40 mL, para que não ocorressem variações significativas na alimentação. Note-se no entanto, que na verificação dos resultados experimentais através dos balanços mássicos as pequenas variações de volume devidas à recolha das amostras foram sempre tidas em conta.

As amostras foram conservadas no frigorífico a 4 °C, durante 24 horas, no máximo, para depois disso se proceder à análise dos fenólicos totais e a liofilização da restante amostra. Quando se previa que o intervalo de tempo entre a recolha e a análise e/ou liofilização era superior a 24 horas, as amostras eram desarejadas com N_2 e colocadas no congelador.

Paragem do ensaio

A paragem da instalação foi efetuada lentamente para evitar variações bruscas de pressão e caudal, que poderiam provocar o rompimento ou delaminagens nas membranas. Por isso, a pressão do sistema e o caudal de circulação foram reduzidos de forma gradual e só depois é que a bomba era desligada.

3.3.6. Limpeza das Membranas

Depois de terminado o ensaio, fez-se passar (entrar e imediatamente sair) aproximadamente 1 L de solução etanólica 80% (V/V) para que o extrato fosse totalmente removido do sistema. De seguida passava-se novamente, aproximadamente 1 L, de uma nova solução etanólica durante 10 minutos sem pressão. Trocava-se a solução etanólica e repetia-se o passo anterior durante 30 minutos. Esta limpeza com solução etanólica era efetuada para que fosse removido o *fouling* externo pois, de seguida, mediam-se os fluxos volumétricos de permeado para diferentes pressões. O decréscimo de permeabilidade observado em relação à permeabilidade determinada apenas com solvente é causado pelo material adsorvido e que obstrui os poros da membrana e constitui o *fouling* irreversível. Este material é removido apenas com lavagens químicas. Assim, após a lavagem da membrana para a remoção do *fouling* reversível passava-se para a “limpeza química” da membrana: preparavam-se soluções etanólicas com NaOH, tendo o cuidado de respeitar as indicações dos fabricantes para a membrana em questão, lavava-se a membrana durante 1 h com a solução previamente preparada a uma pressão de 1 bar. No final passava-se uma solução etanólica durante 30 minutos a uma pressão de 1 bar, trocava-se a solução etanólica e repetia-se novamente o passo anterior, e depois acondicionava-se a membrana a 9,6 bar durante 1,5 h para determinar novamente a permeabilidade. A “limpeza química” era repetida tantas vezes quantas as necessárias até a membrana recuperar mais de 80% da permeabilidade inicial.

3.4. Métodos de Análise da alimentação, permeados e retentados.

3.4.1. Determinação de Sólidos totais

O teor em sólidos totais foi quantificado na alimentação e nas diferentes frações recolhidas (alimentação, permeados e concentrados). Depois de recolhida a amostra e desta ficar à temperatura ambiente, pipetou-se para um balão de fundo redondo cerca de 30 mL de permeado e 25 mL de retentado e alimentação. O etanol foi removido por evaporação a pressão reduzida e a solução transferida para recipientes pré-pesados e devidamente etiquetados. Após liofilização, procedia-se a nova pesagem quantificando o teor em sólidos por diferença de massa.

3.4.2. Método Folin-Ciocalteu – Determinação de Fenólicos Totais

O teor em compostos fenólicos foi quantificado utilizando o método colorimétrico de Folin-Ciocalteu (47) e modificado por Cadahía e colaboradores (26). Pipetou-se 0,5 mL de cada amostra previamente diluída, padrões e respetivos brancos para tubos de ensaio altos. Adicionou-se 2,5 mL de reagente Folin-Ciocalteu (Merck) previamente diluído em água desionizada, 1:10 V/V, e ainda 2 mL de carbonato de sódio ($\geq 99,9\%$, Merck) a 75 g/L. O conteúdo dos tubos foi homogeneizado num vórtex e colocado num banho de água a 50°C durante 5 minutos ao abrigo da luz. Depois de se retirar os tubos do banho deixava-se arrefecer até atingir a temperatura ambiente, sempre ao abrigo da luz, seguido de homogeneização no vórtex e procedia-se à leitura da absorvância num comprimento de onda de 760 nm num espectrofotómetro. O teor em compostos fenólicos foi determinado recorrendo a uma reta de calibração (10 – 100 $\mu\text{g/L}$) usando ácido gálico (98%, Acros Organics) como padrão e portanto os resultados dos fenólicos totais presentes nas amostras foram expressos em equivalentes de ácido gálico. Todas as análises foram realizadas em duplicado, por isso, apresenta-se a média e o respetivo desvio-padrão dos valores obtidos.

3.4.3. Método Ácido-Butanol – Determinação de Proantocianidinas

Os taninos condensados ou proantocianidinas foram quantificadas recorrendo à reação Bate-Smith (48) e posteriormente adaptada por (49), é um método colorimétrico conhecido como método ácido-butanol. Pesava-se aproximadamente 5 mg de extrato e preparava-se uma solução da mesma. Pipetava-se 0,5 mL de amostra previamente diluída, padrões e respetivos brancos para tubos de ensaio altos. Adicionava-se 3 mL de reagente de butanol (1-butanol:HCl 95:5 V/V) (preparado com 1-butanol, 99,8%, Sigma Aldrich) e 0,1 mL de reagente de ferro (2% de $\text{FeNH}_4(\text{SO}_4)_2 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ (99,8%,

Sigma-Aldrich) em HCl 2M). Homogeneizava-se a solução no vórtex, lia-se a absorvância a 550 nm antes da reação; a reação dava-se num banho a 100 °C durante 50 min e ao abrigo da luz. Após a reação, deixavam-se as amostras mergulhadas em água tépida até atingirem a temperatura ambiente e homogeneizava-se novamente a solução para se proceder novamente à leitura das absorvâncias a 550 nm. O teor em proantocianidinas foi determinado pela diferença das absorvâncias (antes e depois da reação) e recorrendo a uma reta de calibração (70 – 800 µg/L) usando extrato de mimosa (amostra gentilmente cedida pela Mimosa Extract Co. (Pty) Ltd., África do Sul) como padrão, e portanto, o teor de proantocianidinas presente nas amostras foi expresso em equivalentes de extrato de mimosa. Todas as análises foram realizadas em duplicado, por isso, apresenta-se a média e o respetivo desvio-padrão dos valores obtidos.

3.4.4. Número de Stiasny – Determinação em polifenóis condensáveis em formaldeído

Pelo número de Stiasny é possível avaliar o potencial de um extrato para produzir adesivos (50), pois, este número é obtido pela extensão da reação que ocorre entre os taninos condensados e o formaldeído através da formação de um precipitado. Este número foi determinado seguindo o procedimento proposto em (51). Para cada ensaio eram pesados aproximadamente 50 mg de extrato que era dissolvido em 100 mL de água num balão de fundo redondo de 250 mL, adicionava-se 2,5 mL de HCl (10 M) e 5,0 mL de formaldeído (37%, Sigma). A mistura era aquecida em refluxo durante 30 min, depois disto deixavam-se as amostras arrefecer até à temperatura ambiente e filtravam-se as mesmas com filtros de 0,2 µm, que haviam sido previamente pesados e secos na estufa a 105 °C durante a noite. O precipitado era lavado com 50 mL de água morna e depois eram colocados na estufa a 105 °C no mínimo 6 horas; depois de se retirarem os precipitados da estufa estes eram mantidos no exsicador no mínimo 2,5 h até se proceder à sua pesagem. O número de Stiasny foi determinado pela razão entre a massa de taninos condensados e a massa de extrato utilizada em cada ensaio.

3.4.5. Açúcares Redutores

Os açúcares redutores foram quantificados por um método colorimétrico, (52) através da redução do ácido 3,5 – dinitrosalicílico, que, por ação dos açúcares redutores forma um composto de cor castanha. Primeiramente hidrolisavam-se as amostras; para isso, pesava-se entre 5 mg e 10 mg de extrato que era transferido para um tubo de ensaio a que se adicionava 400 µL de H_2SO_4 a 72% e 4,40 mL de H_2O , a solução era homogeneizada no vórtex e mergulhada num banho durante 3 horas a 100 °C. Depois da hidrólise arrefeciam-se os tubos e acertava-se o pH da solução, entre 5 e 8, com solução

de NaOH (4M). Transferia-se a solução para um balão volumétrico de 10,0 mL, e perfazia-se com água, esta solução era posteriormente filtrada (filtro PES 0,2 µm) para um porta-amostras. Pipetava-se 0,5 mL de amostra previamente diluída, padrões e respectivos brancos para tubos de ensaio altos. Adicionava-se 0,5 mL de reagente DNS* e o conteúdo dos tubos era homogeneizado num vortéx e colocado num banho de água a 100°C durante 5 minutos ao abrigo da luz. Depois de se retirar os tubos do banho deixava-se arrefecer até atingir a temperatura ambiente, adicionava-se 5 mL de H_2O , homogeneizava-se novamente a solução no vortéx e deixava-se repousar durante 15 min ao abrigo da luz, seguidamente lia-se a absorvância da solução num comprimento de onda de 540 nm. O teor em açúcares redutores foi determinado recorrendo a uma reta de calibração (0,1 – 1,0 g/L) usando glucose como padrão e portanto os resultados foram expressos em equivalentes de glucose. Todas as análises foram realizadas em duplicado, por isso, apresenta-se a média e o respetivo desvio-padrão dos valores obtidos.

*O reagente DNS obtém-se, adicionando 100 mL de uma solução A com 250 mL de uma solução B. A solução A é preparada a quente com 5 g de ácido 3,5 dinitrosalicílico em 100 mL de NaOH (2M) e a solução B obtém-se dissolvendo 150 g de tartarato duplo de sódio e potássio em água destilada e perfazendo com água até um volume de 250 mL.

4. Resultados Experimentais e Discussão

Durante o processo de separação por membranas do extrato, com menor IC₅₀ segundo (33), obtido a partir da casca do *E. globulus*, foram utilizadas as quatro membranas de ultrafiltração cujas especificações relevantes fornecidas pelos fabricantes se encontram na Tabela 4, secção 3.3.1. Ao longo do trabalho avaliou-se o desempenho individual de cada uma das membranas relativamente à rejeição dos sólidos totais presentes em solução, compostos fenólicos totais, proantocianidinas, açúcares redutores e ainda número de stiasny para diferentes pressões transmembranares. Fez-se uma análise a cada membrana quanto às resistências desenvolvidas durante a operação e avaliou-se ainda o seu comportamento à lavagem química após separação.

4.1. Caraterização das Membranas

4.1.1. Permeabilidade a solventes

Antes de proceder aos ensaios com o extrato da casca de *E. globulus*, determinou-se a permeabilidade de cada membrana utilizando água e etanol 80% para a temperatura de 35°C e para um caudal de 4,5 Lpm. A presença de etanol em solução afeta as interações do solvente-soluto-membrana e consequentemente o mecanismo de transporte através da mesma, (53), (54) e (55). Além disso o fluxo volumétrico também será afetado devido à alteração de viscosidade da solução, e, se à partida a presença de um solvente orgânico afetar bastante o fluxo de solução através da membrana, a utilização da mesma poderá ser condicionada, pois o processo poderá ser inviável sob o ponto de vista económico para fluxos muito baixos (41). Para isso, adotou-se o procedimento da secção 3.3.3 medindo-se os fluxos das soluções para diferentes pressões transmembranares. Na Tabela 5, encontram-se reunidos os valores dos fluxos obtidos, com água e com solução etanólica para cada pressão transmembranar.

Tabela 5 – Fluxos da água e das soluções etanólicas para as pressões de: 3 bar, 5 bar e 8 bar (T=35°C e Q=4,5 Lpm).

Pressão/bar	Solução	Fluxo / Lm ² h ⁻¹			
		GE 1	P 5	JW 30	EW 60
3	H ₂ O	12,23	249,89	341,30	703,27
	EtOH 80%	5,39	97,86	114,56	237,41
5	H ₂ O	19,93	391,44	520,71	1083,18
	EtOH 80%	8,79	152,62	185,03	365,97
8	H ₂ O	31,72	607,86	797,33	1661,25
	EtOH 80%	13,88	227,36	295,00	529,54

O conhecimento do fluxo volumétrico que passa através da membrana permite determinar a sua permeabilidade a uma determinada solução, como vem exemplificado no Anexo 1. Na Tabela 6 encontram-se compilados os valores das permeabilidades das diferentes membranas para água e para solução etanólica.

Tabela 6 – Permeabilidades das membranas estudadas à temperatura de 35°C e um caudal de 4,5 Lpm.

Membrana	$L_p \text{ H}_2\text{O}/\text{Lm}^{-2}\text{h}^{-1}\text{bar}^{-1}$	$L_p \text{ EtOH80\%}/\text{Lm}^{-2}\text{h}^{-1} \text{ bar}^{-1}$	$\frac{L_p \text{ EtOH80\%}}{L_p \text{ H}_2\text{O}}$
GE 1	3,89	1,70	0,44
P 5	72,37	24,98	0,34
JW 30	91,21	35,51	0,39
EW 60	191,26	57,17	0,30

Uma vez que o etanol é menos polar do que a água (56), há uma diminuição óbvia na polaridade da solução a 80% em relação à água pura. Por outro lado, propriedades como o volume molar, tensão superficial, densidade e viscosidade também são consideravelmente diferentes (57). A 35 °C a viscosidade da água pura é de $0,72 \times 10^{-3}$ Pa.s e da solução etanólica a 80% (V/V) é de $1,44 \times 10^{-3}$ Pa.s. Analisando a Lei de Darcy verifica-se que o fluxo da solução que atravessa a membrana é inversamente proporcional à viscosidade da mesma pelo que, nas mesmas condições operatórias, espera-se que a permeabilidade da solução etanólica seja menor que a da água pura. Geens e colaboradores (55) estudaram a influência de misturas binárias água-etanol, entre outras, e a influência da composição da alimentação e das propriedades da membrana na permeabilidade e na rejeição de determinados solutos. No seu estudo, os autores verificaram que a permeabilidade das soluções etanólicas são sempre inferiores à permeabilidade à água pura, o que vai de encontro aos resultados obtidos com as membranas em estudo - Tabela 6.

Para todos os ensaios efetuados verifica-se que, de facto, a presença do solvente orgânico afetou negativamente a permeabilidade de todas as membranas devido a uma maior resistência na interface membrana-solvente. Para comparação do efeito do solvente entre membranas determinou-se a razão entre a permeabilidade em etanol 80% e a permeabilidade hidráulica. Analisando os resultados obtidos - Tabela 6 – verifica-se que a membrana mais afetada é a EW 60 e a menos afetada é a GE 1, ou seja, a permeabilidade sofreu uma redução maior no caso da membrana de maior *cut-off* e uma menor redução na membrana de menor *cut-off*. No estudo, anteriormente referido de Geens e colaboradores (55), os autores concluíram que por um lado, o *cut-off* e a hidrofiliicidade das membranas e, por outro, a viscosidade e polaridade da mistura de solventes, são fatores determinantes na permeabilidade da solução interagindo em conjunto.

Assim, perante os resultados obtidos sugere-se que a polaridade da solução, seja um dos fatores mais importantes para as diferenças de diminuição de permeabilidade observadas entre estas. Por um lado a membrana EW60 é a que apresenta menor afinidade com o etanol provavelmente pela presença do grupo $-CH_3$ com carácter hidrofóbico. Já a membrana GE 1 deverá apresentar algum grupo funcional que favorece a interação com o etanol. Por isso, apesar da maior viscosidade da solução que diminui inevitavelmente a permeabilidade, esta diminuição não é tão acentuada, indicando assim, que a polaridade do solvente, como parâmetro de transporte, exerce uma influência relevante e diferente em cada membrana.

4.2. Permeação dos extratos obtidos a partir da casca do *E. globulus* nas diferentes membranas

A temperatura, o pH, a concentração da alimentação, o material químico da membrana, o tamanho do poro, o caudal da alimentação e a pressão transmembranar são condições de operação que afetam bastante o processo de separação por membranas. Durante este trabalho estudou-se o impacto da pressão transmembranar na permeação de extratos obtidos a partir da casca do *E. globulus*, mantendo a temperatura a 35 °C, o caudal da alimentação a 4,5 Lpm e a composição da alimentação.

4.2.1. Composição Química Média da Alimentação

A composição média da alimentação utilizada neste trabalho - extrato de casca de *E. globulus* obtido com 80% de etanol, temperatura de extração 82,5 °C e tempo total 360 min - é apresentada na Tabela 7.

Tabela 7 – Composição química média dos extratos utilizados durante o processo de separação com membranas e os valores referenciados em bibliografia (33).

Valores	Sólidos totais gL ⁻¹	Fenólicos totais %m _{ác.gálico} /m _{ext}	Proantocianidinas %m _{ext. mimosa} /m _{ext}	Açúcares %m _{Glú} /m _{ext}	Número de Stiasny
Alimentação média	6,010±0,379	29,627±1,806	20,437±0,846	21,157±2,023*	33,3±3,9
Teórico (33)(1)	-	27,7	11,3	19,1**	41,1
Experimental (33)	-	25,9	13,9	18,7**	44,5

*referente aos açúcares redutores e ** referente a açúcares totais.

(1) - valor obtido através do modelo desenvolvido: modelo de superfície de resposta

A composição média e o desvio padrão foram calculados a partir dos valores da análise da alimentação, que se realizou antes de cada ensaio. Desta forma foi possível averiguar se a composição da alimentação se mantinha constante entre ensaios (para que a comparação entre condições e entre membranas fosse válida) e, em simultâneo, calcular o desvio padrão associado a cada método de análise. Comparando a composição química média da alimentação e os valores previstos pelo Modelo de Superfície de Resposta e os valores experimentalmente obtidos para as

mesmas condições de extração (33), verifica-se que existem algumas diferenças; por exemplo, o número de Stiasny obtido para esta alimentação é bastante inferior ao que vem referenciado. Por outro lado, o teor em proantocianidinas é consideravelmente superior. A justificação para esta diferença poderá dever-se à atmosfera inerte utilizada na extração da casca efetuada para este trabalho e que não tinha sido realizada antes, o que permitiu uma melhor preservação dos compostos que respondem ao método de butanol-ácido – proantocianidinas. Estes compostos são conhecidos pela sua atividade anti-oxidante e, como tal, são relativamente susceptíveis de sofrer oxidação. Por outro lado, é importante não esquecer a grande variabilidade de fatores que influenciam a composição química de uma casca: sendo um lote diferente, é natural que ocorram diferenças na composição do extrato. Esta pequena alteração na composição química do extrato não comprometeu o trabalho pois todas as alimentações apresentavam valores concordantes com desvios padrão razoáveis pelo que podemos considerar a concentração da alimentação também uma variável controlada nos diversos ensaios. No entanto, para os cálculos relativos a cada ensaio, optou-se por utilizar o valor obtido para a alimentação respetiva e não o valor médio, pelo que os valores de cada toma de extrato para alimentação da unidade de ultrafiltração são apresentados na Tabela 11 na secção 4.2.4.

4.2.2. Comportamento das membranas ao longo do regime transiente até ao regime estacionário

Como seria de esperar o fluxo volumétrico de permeado foi diminuindo ao longo do tempo – da Figura 16 à Figura 19. Dependendo das características da membrana utilizada, o fluxo de permeado foi mais ou menos afetado ao longo da permeação e foi mais ou menos beneficiado com o aumento da pressão transmembranar. Esta diminuição de fluxo ao longo da separação constitui uma das principais desvantagens da ultrafiltração. Assim, nesta secção apresenta-se o comportamento das diferentes membranas ao longo da permeação do extrato, e será feita uma análise à diminuição do fluxo ao longo do tempo, bem como a influência da pressão transmembranar aplicada e o *Cut-off* da membrana no declínio do mesmo.

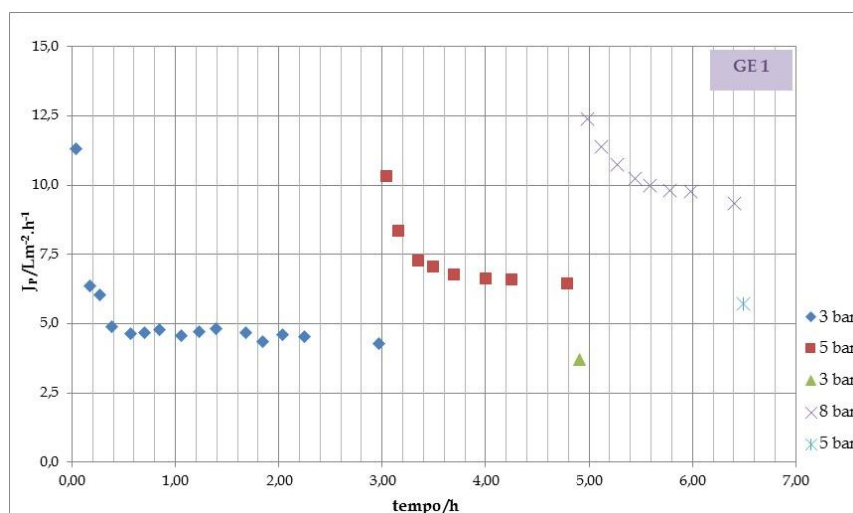


Figura 16 – Fluxo de permeado na membrana GE 1, em função do tempo para diferentes pressões aplicadas em modo sequencial e em reciclo total à T=35 °C e Q=4,5 Lpm.

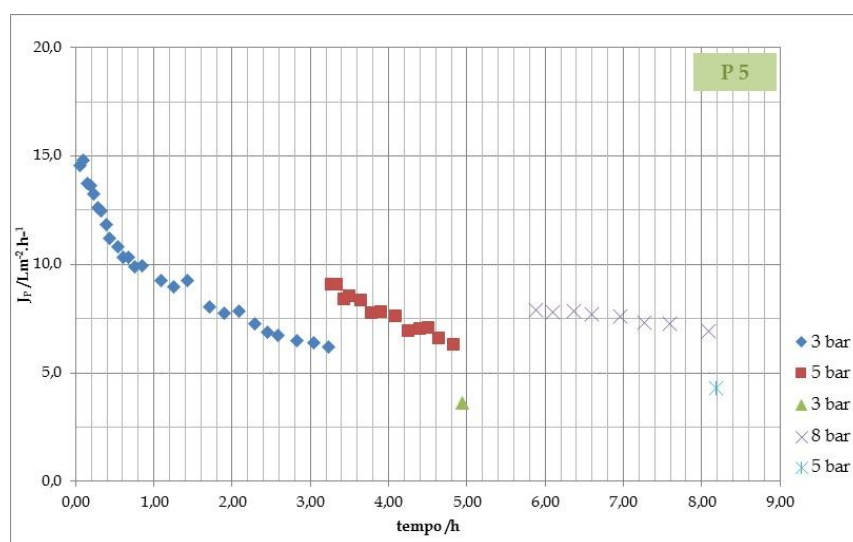


Figura 17 – Fluxo de permeado na membrana P 5, em função do tempo para diferentes pressões aplicadas em modo sequencial e em reciclo total à T=35 °C e 4,5 Lpm.

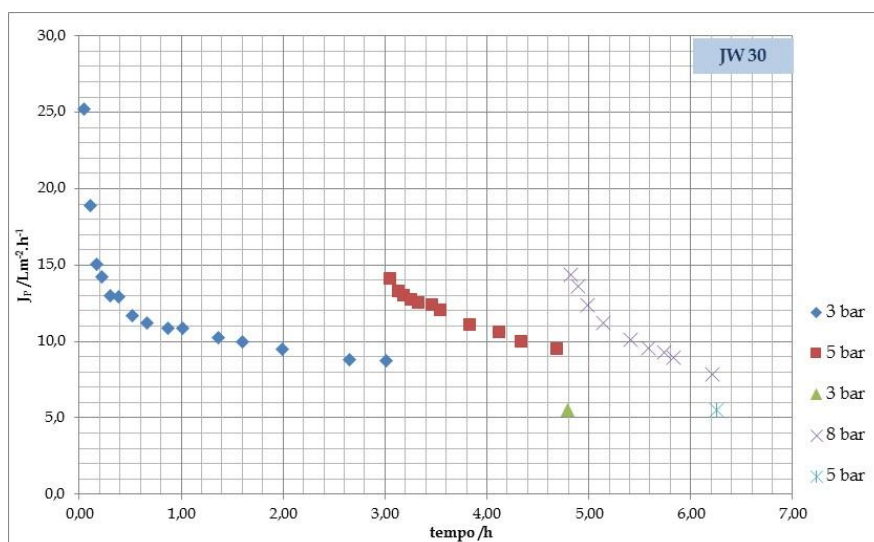


Figura 18 – Fluxo de permeado na membrana JW 30 em função do tempo para diferentes pressões aplicadas em modo sequencial e em reciclo total à T=35 °C e Q=4,5 Lpm.

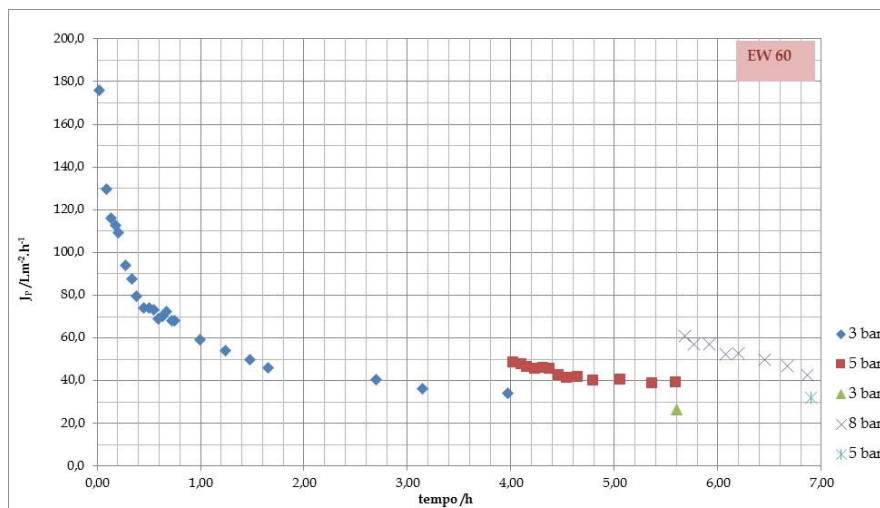


Figura 19 – Fluxo de permeado na membrana EW 60 em função do tempo para diferentes pressões aplicadas em modo sequencial e em reciclo total à T=35 °C e Q=4,5 Lpm.

Cada ensaio foi realizado em modo sequencial e em reciclo total, ou seja, iniciou-se cada um dos ensaios com uma pressão transmembranar de 3 bar, foi-se monitorizando o fluxo volumétrico de permeação ao longo do tempo e quando se atingia o estado estacionário, (definido como a diminuição do fluxo de permeado menor que 10% entre permeações), retirava-se uma amostra de permeado e de concentrado. Depois disso aumentava-se a pressão, e toda a operação era repetida, primeiro para 5 bar e depois para 8 bar. À exceção das amostras recolhidas para análise, todo o permeado era devolvido à alimentação inicial.

Para perceber de que forma o fluxo de permeado foi afetado ao longo do tempo determinou-se para cada uma das pressões, a redução relativa do fluxo do permeado de extrato em percentagem até se atingir o estado estacionário - Tabela 8 - utilizando a seguinte equação:

$$RRF = \frac{J_i - J_f}{J_i} \times 100\%$$

Onde, J_i corresponde ao fluxo inicial e J_f corresponde ao fluxo final,

Tabela 8 – Redução relativa do permeado ao longo da permeação do extrato nas diferentes membranas para as diferentes pressões.

Membrana	3 bar	5 bar	8 bar
GE 1	62,2%	37,8%	24,6%
P 5	57,6%	30,5%	12,3%
JW 30	65,3%	32,6%	45,7%
EW 60	80,6%	19,9%	30,1%

Analisando as figuras anteriores e a Tabela 8 verifica-se que as membranas GE 1, P 5 e JW 30, demoraram aproximadamente 3 horas até que se atingisse o estado estacionário, para este intervalo de tempo estas membranas sofreram uma redução relativa de fluxo de permeado de

aproximadamente 60%, valor apontado na literatura (58) como referência para se considerar uma membrana com a camada de *fouling* formada e consequentemente estabelecido o estado estacionário. Para a membrana EW 60 o mesmo não aconteceu: foram necessárias aproximadamente 4 horas para que se atingisse o estado estacionário e a redução relativa do permeado foi muito mais severa, cerca de 80%. Isto poderá estar relacionado com o *cut-off* da membrana, que é superior à massa molecular dos compostos polifenólicos no extrato.

O tempo necessário para se atingir o estado estacionário para as pressões de 5 bar e 8 bar foi menor, entre 1 a 2 horas, bem como a redução relativa de fluxo do permeado o que se deve à camada de *fouling* já criada a 3 bar e o fluxo considerado inicial para a determinação da redução de fluxo, já vem influenciado pela existência dessa mesma camada de *fouling*. Destaca-se no entanto as seguintes situações: pela análise dos valores apresentados na Tabela 8, durante a operação a 5 bar as membranas GE 1, P 5 e JW 30, apresentam reduções relativas de fluxo permeado que rondam os 30% ao passo que a EW 60 apresenta a menor redução cerca de 20%. Durante a operação a 8 bar as reduções de fluxo são bastante diferentes para todas as membranas tendo sido a membrana JW 30 a mais afetada.

De forma a enriquecer a análise do efeito da pressão sobre a criação da camada de *fouling*, antes de se alterar a pressão do sistema de 5 bar para 8 bar e no final do ensaio a 8 bar foram medidos os fluxos de permeado a 3 bar e 5 bar respetivamente. Da Figura 16 à Figura 19, estes pontos aparecem destacados a verde e a azul claro. Para todas as membranas verifica-se que a camada de *fouling* foi agravada com o aumento da pressão, pois todos os fluxos sofreram uma redução comparativamente ao estado estacionário anterior após a membrana ter sido submetida a uma pressão mais elevada. No trabalho desenvolvido por Diqiao S. Wei e colaboradores (59) os autores referem que o facto do aumento da pressão transmembrana aumentar o fluxo de permeado, isto é indicativo que a taxa de deposição de *fouling* também seja superior, o que faz com que o soluto rejeitado fique comprimido numa camada mais densa aumentando assim a resistência devido ao *fouling*, isto justifica o facto de que quando se diminui a pressão após se ter atingido o estado estacionário a uma pressão mais elevada, o fluxo de permeado seja inferior ao fluxo obtido anteriormente para essa mesma pressão.

Tabela 9 - Redução relativa do permeado quando se passa de 5 bar para 3 bar e de 8 bar para 5 bar.

Membrana	5 bar → 3 bar	8 bar → 5 bar
GE 1	13,2%	11,2%
P 5	41,6%	31,8%
JW 30	36,7%	42,2%
EW 60	22,3%	18,1%

Pelos resultados apresentados na Tabela 9 verifica-se que as membranas mais suscetíveis ao *fouling* quando se aumenta a pressão são as membranas P 5 e JW 30, pois, foram estas que apresentaram a maior redução relativa do permeado após a operação a uma pressão mais elevada. As menos afetadas foram a EW 60 e GE 1, com um melhor desempenho desta última. Susanto e colaboradores (60) referem que, para membranas com o mesmo material, quanto maior é o *cut-off* menor é a tendência a *fouling*, por isso, o facto da GE 1 ser menos suscetível a *fouling* quando comparada com a EW 60, vai influenciar o seu comportamento tanto na permeabilidade a uma solução mais polar, como vem referido na secção 4.1.1, bem como o seu comportamento na retenção dos compostos polifenólicos como será discutido na secção 4.2.4.

No global dos ensaios, ou seja, quando se considera J_i no início do ensaio e J_f no final, estado estacionário a 8 bar, a membrana mais afetada pelo declínio do fluxo é a EW 60 com uma redução de 75,81%, o que contrasta com os valores obtidos na Tabela 9, seguidamente a JW 30 com 68,9%, P 5 com 52,5% e finalmente a GE 1 com uma redução de apenas 17,3% e portanto a menos afetada pela permeação do extrato.

Além do estudo da redução relativa do fluxo do permeado ao longo dos ensaios, também é importante avaliar de que forma a pressão e o *cut-off* da membrana influenciam o fluxo de permeado ao longo dos ensaios. Para isso, representou-se graficamente o fluxo de permeado no estado estacionário em função da pressão aplicada e em função do *cut-off* da membrana, como se pode verificar na Figura 20.

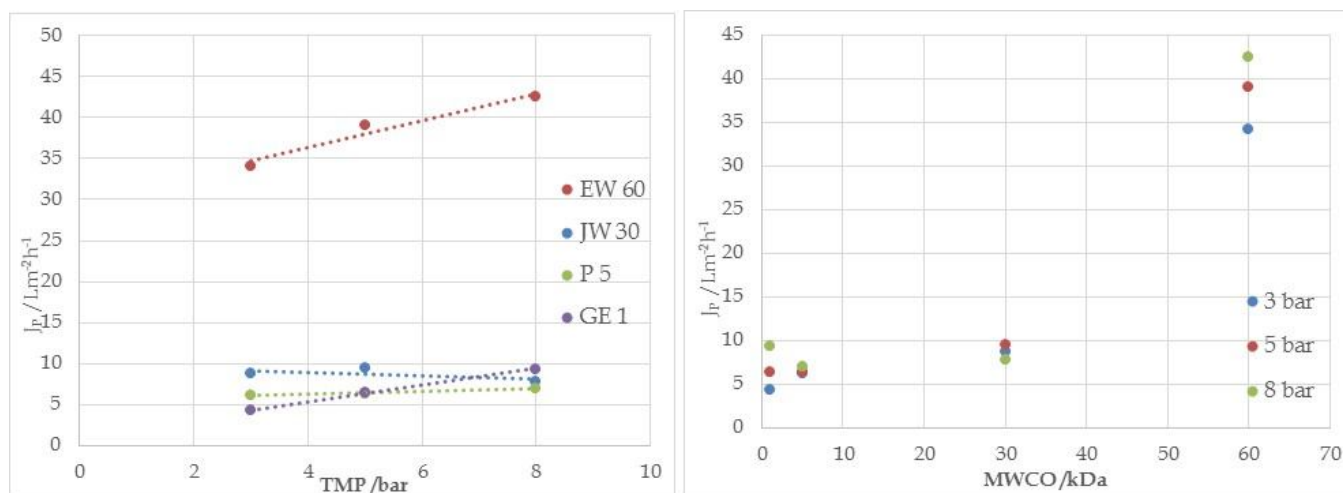


Figura 20 – Influência da pressão transmembranar (à esquerda) e do *cut-off* cedido pelo fornecedor (à direita) da membrana no fluxo do permeado de extrato para diferentes pressões aplicadas em modo sequencial e em reciclo total.

Da Figura 20 podemos concluir que o fluxo de permeado varia linearmente com a pressão, o que vai de encontro ao referido na literatura (35) e (61). No entanto, o aumento de *cut-off* da membrana não é diretamente proporcional ao fluxo, o que indica que a natureza química do material da membrana tem uma grande influência na seletividade da mesma, (35).

Nos ensaios com as membranas EW 60, P 5 e GE 1, o fluxo de permeado aumentou à medida que se aumentou a pressão transmembranar, pelo que, ao se traçar uma linha de tendência entre os pontos, se verifica uma forte correlação entre estas duas variáveis. O fluxo de permeado nas membranas EW 60 e GE 1, é bastante beneficiado com o aumento da pressão, já no caso da membrana P 5 praticamente não existe variação, como se pode confirmar pelo declive da reta. A pressão ao variar linearmente com o fluxo de permeado é indicativo de que, para as condições adotadas, se operou numa região controlada pela pressão, (41).

Na membrana JW 30 podemos dizer que praticamente não existe linearidade e que o aumento de pressão afetou negativamente o fluxo de permeado. Em (59), Diqiao et al. referem que o fluxo pode tornar-se independente da pressão quando esta está além de um ponto crítico devido à polarização por concentração e ao *fouling*, isto vai de encontro ao referido anteriormente sobre a suscetibilidade da membrana JW 30 para a formação de *fouling*. Assim, para a membrana JW 30 as condições de operação adotadas proporcionaram uma consolidação da camada de polarização o que tornou o fluxo de permeado através desta, independente da pressão e portanto em regiões controladas pela transferência de massa numa camada adjacente à membrana.

4.2.3. *Fouling* nas membranas e análise de resistências

Pelo facto de ser possível operar a baixas temperaturas sem mudanças de fase e com baixos consumos de energia, o processo de separação com membranas tem-se mostrado muito vantajoso na concentração de extratos ricos em compostos bioativos. Contudo, ao longo da separação o fluxo de permeado vai diminuindo exponencialmente devido à polarização por concentração e ao *fouling* que se vai formando na membrana; esta diminuição de fluxo ao longo do tempo constituirá uma desvantagem, pois será necessário investir em membranas com áreas maiores, recorrer periodicamente à lavagem das mesmas e diminuirá o tempo de vida útil destas o que fará aumentar os custos operacionais associados ao processo.

Para compreender de que forma o fluxo do permeado nas membranas utilizadas era afetado devido à presença dos compostos polifenólicos na matriz do extrato compilou-se na Tabela 10, os valores dos fluxos de permeado para a solução etanólica e o fluxo de permeado do extrato, nas três pressões de operação; de forma a auxiliar a análise das mesmas calculou-se a respetiva redução do fluxo relativa.

Tabela 10 – Redução do fluxo relativa em percentagem quando se compara o fluxo de permeado do extrato no estado estacionário e o fluxo de permeado do solvente.

Pressão /bar	GE 1			P 5			JW 30			EW 60		
	J _{Psolv} Lm ⁻² h ⁻¹	J _{Pextrato} Lm ⁻² h ⁻¹	RFR %	J _{Psolv} Lm ⁻² h ⁻¹	J _{Pextrato} Lm ⁻² h ⁻¹	RFR %	J _{Psolv} Lm ⁻² h ⁻¹	J _{Pextrato} Lm ⁻² h ⁻¹	RFR %	J _{Psolv} Lm ⁻² h ⁻¹	J _{Pextrato} Lm ⁻² h ⁻¹	RFR %
3	5,39	4,28	20,6	97,9	6,19	93,7	114,6	8,75	92,4	237,4	34,14	85,6
5	8,79	6,42	26,9	152,6	6,31	95,9	185,0	9,51	94,9	366,0	39,07	89,3
8	13,88	9,36	32,6	227,4	6,92	96,9	295,0	8,93	97,0	529,5	42,51	91,9

Como se pode verificar pela Tabela 10 a passagem de um extrato complexo, como o extrato de casca de *E. globulus*, provoca reduções no fluxo de permeado severo devido à sua riqueza em compostos polifenólicos. As membranas mais afetadas são a P 5 e a JW 30, com reduções acima dos 90%, sendo a GE 1 a menos afetada pela permeação do extrato. O rápido declínio inicial do fluxo de permeado – da Figura 16 a Figura 19 – deve-se às moléculas rejeitadas à superfície da membrana formando um gradiente de concentração designado como polarização por concentração. Após a diminuição inicial do fluxo de permeado devido à polarização por concentração, o fluxo continua a diminuir devido à formação de *fouling* interno.

O declínio do fluxo de permeado pode ser analisado sob o ponto de vista do Modelo de Resistências em Série mencionado na secção 2.3.3. Assim, sabendo que quando a membrana fica sujeita apenas à passagem de água pura somente a resistência da membrana (R_m) fica envolvida e o fluxo de permeado é representado por:

$$J = \frac{\Delta P}{\mu \times R_m}$$

No entanto quando estão presentes solutos em solução a Lei de Darcy generalizada fica:

$$J = \frac{\Delta P}{\mu \times R_t}$$

Onde R_t corresponde à resistência total a que a membrana fica sujeita, devido à presença desses mesmos solutos, ou seja, além da resistência inerente à membrana, forma-se uma resistência adicional devido à formação de *fouling*.

$$R_{Total} = R_{membrana} + R_{fouling}$$

A resistência devida ao *fouling* corresponde à soma do *fouling* externo e do *fouling* interno, pelo que a equação anterior pode ser escrita da seguinte forma:

$$R_{Total} = R_{membrana} + R_{fouling\ externo} + R_{fouling\ interno}$$

O *fouling* externo é devido à polarização por concentração e à deposição de sólidos à superfície da membrana (formação de bolo) e por isso pode ser removido pela passagem de água ou, no caso concreto deste trabalho, com solução etanólica 80% (V/V), como descrito na secção 3.3.6. No caso do *fouling* interno a resistência deve-se ao bloqueio dos poros e à adsorção nas paredes da membrana. Estes mecanismos de *fouling* encontram-se representados na Figura 10, secção 2.3.3.

Seguidamente faz-se uma análise ao aumento de resistência nas membranas devido à presença de etanol em solução.

4.2.3.1. Resistências intrínsecas das membranas à água pura e à solução etanólica 80% (V/V).

Para estudar a resistência intrínseca da membrana, foi utilizado o procedimento descrito em 3.3.3 e as respetivas resistências foram determinadas recorrendo às permeabilidades das soluções na membrana pela seguinte equação $R_m = \frac{1}{\mu \times L_p}$.

Tabela 11 – Resistência intrínseca de cada membrana (R_{H_2O}) e resistência total quando atravessa solução de EtOH 80%.

Membrana	$R_{H_2O} \times 10^{12} / m^{-1}$	$R_{EtOH80\%} \times 10^{12} / m^{-1}$	$\frac{R_{EtOH80\%}}{R_{H_2O}}$
GE 1	128,3	147,3	1,15
P 5	6,91	10,0	1,45
JW 30	5,48	7,04	1,28
EW 60	2,61	4,37	1,67

A resistência devida ao *fouling* externo foi determinada a partir da permeabilidade da membrana após a passagem de solução etanólica na mesma, como vem descrito na secção 3.3.6. Como já era conhecida a resistência intrínseca da membrana à passagem da solução etanólica - Tabela 11, facilmente se determinou a resistência devida ao *fouling* interno. Os valores das diferentes resistências encontram-se reunidos na Tabela 12.

Tabela 12 – Valores das diferentes resistências.

Membrana	$R_{total} \times 10^{13}$ m^{-1}	$R_{membrana} \times 10^{13}$ m^{-1}	$R_{fouling} \times 10^{13}$ m^{-1}	$R_{fouling\ interno} \times 10^{13}$ m^{-1}	$R_{fouling\ externo} \times 10^{13}$ m^{-1}
GE 1	35,1	14,7	20,3	19,1	1,28
P 5	28,9	1,00	27,9	7,24	20,6
JW 30	25,6	0,704	24,9	8,71	16,1
EW 60	4,7	0,437	4,27	3,91	0,355

Pela análise da Tabela 12 a resistência devida ao *fouling* é por ordem decrescente de severidade JW 30 (97, 3%), P 5 (96,5%), EW 60 (90,8%) e GE 1 (57,8%), respetivamente. Em todas as membranas a contribuição da resistência devida ao *fouling* para a resistência total é bastante superior à resistência inerente à membrana. Este facto também foi verificado por Benítez e colaboradores (61) onde os autores utilizam processo de separação por membranas por nanofiltração e ultrafiltração no tratamento de águas e Cheryan (41).

A resistência devida ao *fouling* externo é mais severa nas membranas P 5 e JW 30 com um peso de 73,8% e 64,7% na resistência devida ao *fouling* respetivamente. No caso das membranas GE 1 e EW 60 a percentagem da resistência devida ao *fouling* externo não chega aos 10%. O grau de suscetibilidade das membranas ao *fouling* vai facilitar ou dificultar a limpeza da mesma. Na Tabela 13, encontram-se o número de lavagens necessárias até que a membrana recuperasse a permeabilidade inicial após a permeação do extrato.

Tabela 13 – Comportamento da membrana à lavagem da membrana com solução etanólica e com solução etanólica com NaOH.

Membrana	Permeabilidade / $Lm^{-2}h^{-1}bar^{-1}$							
	Antes separação	Após separação	Lavagem 1	Lavagem 2	Lavagem 3	Lavagem 4	Lavagem 5	Lavagem 6
GE 1	1,70	1,48	1,70	-	-	-	-	
P 5	24,98	6,07	17,54	19,33	-	-	-	
JW 30	37,95	5,31	26,38	35,15	-	-	-	
EW 60	57,17	11,50	25,39	31,29	33,80	34,46	22,47	22,87

Saliente-se a facilidade na limpeza da membrana GE 1 que, de todas, foi a membrana menos suscetível ao *fouling*, o que se refletiu na sua recuperação. No caso das membranas P 5 e JW 30, a limpeza das mesmas também foi relativamente fácil, devendo-se essencialmente à menor contribuição do *fouling* interno para o *fouling* total e, como tal, a sua remoção é relativamente fácil pois antes de se recorrer à “limpeza química” da membrana esta já havia recuperado uma boa percentagem da sua permeabilidade inicial apenas com a passagem da solução etanólica. Não foi possível recuperar a membrana EW 60 – como se pode confirmar na Tabela 13.

4.2.3.2. Efeito da pressão na resistência de fouling

Interessa agora estudar de que forma a pressão transmembranar afeta a resistência devida ao *fouling*. Para isso, relacionou-se estas duas variáveis através da representação gráfica na Figura 21.

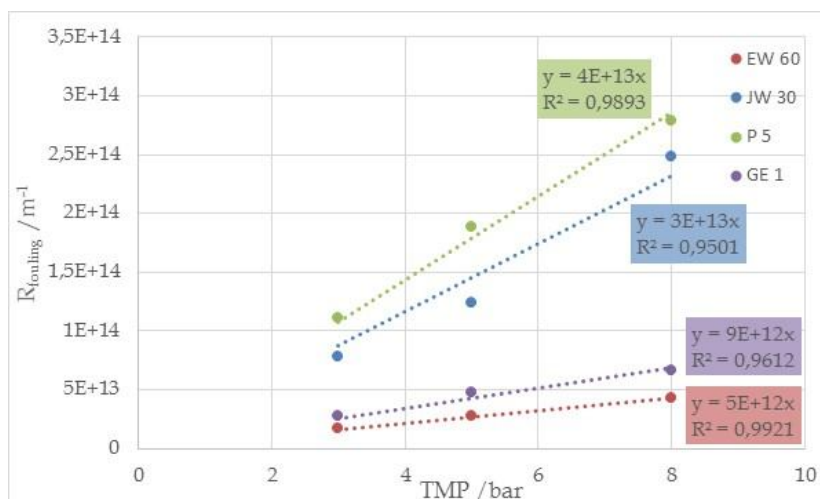


Figura 21 – Variação da resistência devida ao fouling em função da pressão transmembranar.

Pela análise à Figura 21 verifica-se que existe uma dependência linear entre as duas variáveis como se pode confirmar pelos coeficientes de correlação. E as membranas mais suscetíveis ao *fouling* devido ao aumento da pressão transmembranar são a P 5 e a JW 30, facto que está em confirmidade com o que foi concluído anteriormente do efeito da pressão transmembranar no fluxo de permeado.

4.2.4. Efeito da pressão transmembranar na separação de compostos polifenólicos

Na Tabela 14 encontram-se sintetizados todos os resultados experimentais, das análises efetuadas às alimentações, permeados e retentados durante os ensaios de cada uma das membranas.

Tabela 14 - Caracterização da alimentação, dos permeados e retentados obtidos a partir da permeação do extrato à temperatura de 35 °C, com um caudal de circulação de 4,5 Lpm e a diferentes pressões aplicadas em modo sequencial e em reciclo total com as membranas selecionadas GE 1, P 5, JW 30 e EW 60.

		A ₀	3 bar		5 bar		8 bar	
			Permeado	Retentado	Permeado	Retentado	Permeado	Retentado
GE 1	Sólidos gL ⁻¹	6,168	3,403	4,956	2,858	5,228	2,769	5,429
	F _{Totais} g _{AG} L ⁻¹	1,778±0,012	0,904±0,001	1,587±0,012	0,758±0,007	1,533±0,014	0,698±0,014	1,653±0,009
	%m _{AG} /m _{Ext}	30,27±0,20	29,57±0,12	28,75±0,42	27,47±0,55	30,03±0,16	26,61±0,20	29,64±0,11
	%m _{EM} /m _{Ext}	19,68±0,18	12,20±0,16	20,23±1,41	10,22±0,08	21,07±0,59	8,77±0,02	20,86±0,16
	%m _{Glu} /m _{Ext}	20,34±1,20	22,09±0,79	34,43±0,23	20,14±0,58	12,97±0,04	21,24±0,65	18,61±0,40
	Nº Stiasny	29,35	14,70	37,12	#	36,69	13,86	35,16
P 5	Sólidos gL ⁻¹	6,366	3,082	5,294	2,727	5,431	2,223	5,724
	F _{Totais} g _{AG} L ⁻¹	1,761±0,009	0,685±0,041	1,733±0,004	0,607±0,007	1,646±0,014	0,487±0,006	1,838±0,006
	%m _{AG} /m _{Ext}	31,88±0,12	20,59±0,25	30,81±0,17	21,84±0,12	30,03±0,18	20,12±0,02	32,00±0,05
	%m _{EM} /m _{Ext}	20,28±0,40	5,24±0,13	19,69±0,48	5,28±0,17	19,83±0,73	3,86±0,18	22,34±0,10
	%m _{Glu} /m _{Ext}	23,46±0,57	20,30±0,22	24,95±1,34	21,10±1,09	19,31±3,82	16,23±0,35	16,36±0,48
	Nº Stiasny	33,97	17,22	33,28	12,29	32,01	#	35,55
JW 30	Sólidos gL ⁻¹	6,023	2,974	5,185	2,391	5,609	2,606	5,839
	F _{Totais} g _{AG} L ⁻¹	1,782±0,021	0,694±0,001	1,859±0,009	0,609±0,021	1,873±0,016	0,527±0,001	1,904±0,006
	%m _{AG} /m _{Ext}	27,96±0,47	17,42±0,17	30,56±0,28	16,53±0,05	30,96±0,09	17,29±0,15	31,97±0,01
	%m _{EM} /m _{Ext}	21,35±0,07	5,50±0,11	21,95±0,40	4,27±0,20	20,92±0,10	3,28±0,26	22,16±0,33
	%m _{Glu} /m _{Ext}	19,67±0,39	15,02±0,02	22,50±1,15	18,35±1,58	20,13±0,26	26,79±0,38	19,77±0,09
	Nº Stiasny	38,43	#	36,76	#	37,17	#	34,22
EW 60	Sólidos gL ⁻¹	5,482	5,086	5,540	5,242	5,713	5,195	5,402
	F _{Totais} g _{AG} L ⁻¹	1,826±0,055	1,538±0,031	1,819±0,004	1,698±0,010	2,000±0,005	1,713±0,015	1,573±0,033
	%m _{AG} /m _{Ext}	28,40±0,36	27,49±0,27	29,00±0,58	30,50±0,48	29,24±0,51	29,48±0,21	29,28±0,48
	%m _{EM} /m _{Ext}	20,98±0,72	16,82±0,83	19,63±0,31	19,63±0,38	20,33±0,39	20,34±0,84	19,86±0,34
	%m _{Glu} /m _{Ext}	18,87±0,20	15,40±0,08	24,53±0,13	16,51±0,06	17,18±0,04	26,06±0,20	18,59±0,24
	Nº Stiasny	31,64	28,34	35,13	33,87	33,46	31,51	34,30

Nota: # - amostra insuficiente para análise.

Para avaliar o desempenho das várias membranas determinou-se o coeficiente de retenção aos sólidos totais, fenólicos totais e proantocianidinas recorrendo à equação referida na secção 2.3.1. Após uma análise – através de balanços de massa - aos resultados experimentais obtidos para os açúcares redutores decidiu-se não avaliar a eficiência das membranas quanto à retenção dos mesmos, pois alguns resultados são incoerentes pelo que não é possível tirar conclusões fidedignas. Ficam, no entanto, aqui registados para possíveis futuras comparações. Na Figura 22 encontram-se representados graficamente os vários coeficientes de retenção em função da pressão transmembranar para as membranas selecionadas.

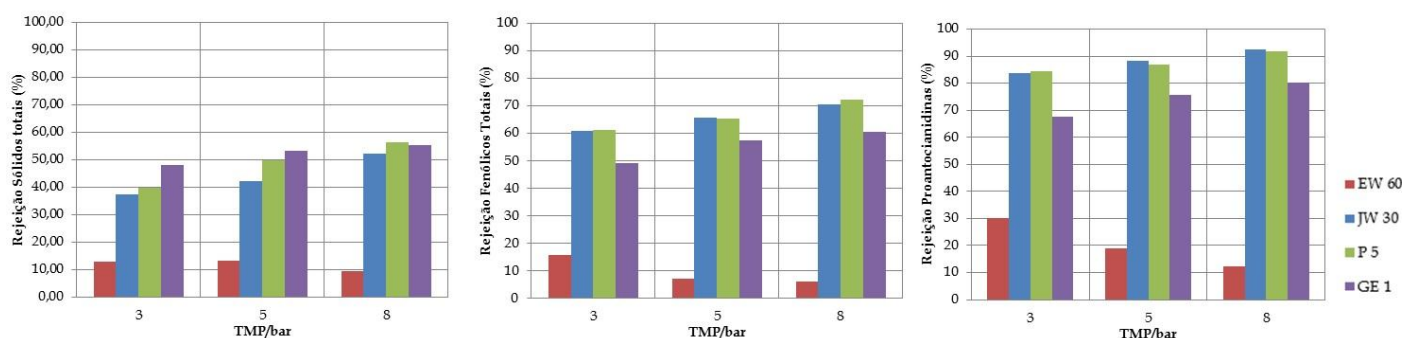


Figura 22 – Rejeição aos sólidos totais (A), compostos fenólicos totais (B) e proantocianidinas (C) na permeação do extrato à temperatura de 35°C, com um caudal de permeação 4,5 Lpm e a diferentes pressões aplicadas em modo sequencial e em reciclo total com as membranas selecionadas GE 1, P 5, JW 30, EW 60.

À exceção da membrana EW 60, todas as outras membranas apresentam a mesma tendência, o aumento da rejeição à medida que a pressão transmembrana aumenta, comportamento indicado na literatura (38) e (41). Este efeito também foi verificado por Díaz-Reinoso e colaboradores em (35) e Diqiao S. Wei e colaboradores em (59) que avaliam o efeito de diversas condições de operação, incluindo a pressão transmembrana, na separação, por ultrafiltração, de compostos polifenólicos a partir de bagaço de uva fermentado e destilado e sumos de fruta respetivamente.

Assim, analisando a Figura 22 para as membranas GE 1, P 5 e JW 30, podemos concluir relativamente aos sólidos totais que aumentando a pressão transmembrana a rejeição também aumenta, notando-se uma convergência para o mesmo valor de rejeição (nas três membranas) para a pressão de 8 bar, confrontando este facto com a propensão ao *fouling* destas membranas - Figura 21, verifica-se que a P 5 e JW 30 são muito mais suscetíveis a este, do que a membrana GE 1, o que indica que a formação da camada adicional além de alterar a rejeição também atenua o efeito do *cut-off*. As membranas GE 1 e EW 60 são as que apresentam valores de retenção mais baixos, ou seja, são mais permeáveis, aos compostos polifenólicos. No caso da membrana EW 60, a facilidade de permeação dos compostos polifenólicos através da membrana deve-se ao seu maior *cut-off* que permite a permeação de compostos desde os fenólicos mais simples aos mais complexos, de maior peso molecular, entre os quais se encontram as proantocianidinas como já referido na secção 2.1.1 - Figura 6. Já a membrana GE 1, que é a de todas a que apresenta o MWCO menor apresenta coeficientes de rejeição inferiores aos obtidos para as membranas P 5 e JW 30, cujo *cut-off* é maior, isto deve-se à tendência da membrana GE 1 para a permeabilidade da solução etanólica – secção 4.1.1. - e ao carácter hidrófobo (devido à presença do anel benzénico) dos compostos polifenólicos, que, uma vez em solução etanólica facilitará a sua permeação através da membrana.

A fim de verificar se existia alguma tendência linear entre a rejeição aos sólidos totais, fenólicos totais e proantocianidinas, e a pressão transmembrana aplicada, ajustaram-se os valores experimentais a uma reta cujos declives e coeficientes de correlação se encontram na Tabela 15.

Tabela 15 – Retas e respetivos coeficientes de correlação para os ajustes lineares entre a rejeição aos diferentes compostos em função da pressão transmembrana.

	Sólidos totais		Fenólicos totais		Proantocianidinas	
	declive	R ²	declive	R ²	declive	R ²
GE 1	1,428	0,8942	2,229	0,8800	2,402	0,9282
P 5	3,193	0,9473	2,248	0,9999	1,456	0,9950
JW 30	2,963	0,9921	1,847	0,9840	1,722	0,9819
EW 60	0,722	0,7589	-1,791	0,7183	-3,464	0,9324

Atendendo aos coeficientes de correlação, comprova-se que existe uma forte correlação entre o ajuste do coeficiente de rejeição e a pressão transmembrana, principalmente para as membranas P 5 e JW 30, que apresentam coeficientes de correlação muito próximos de um. A membrana que menos segue esta tendência é a EW 60.

O declive da reta indica-nos a influência da pressão transmembrana na eficiência da membrana, repare-se que as membranas mais susceptíveis ao aumento de pressão na permeação aos sólidos totais são a P 5 e JW 30, no entanto, quando se analisa a permeação dos fenólicos totais e proantocianidinas a membrana que apresenta um aumento do coeficiente de rejeição mais acentuado é a GE 1.

Enfatizando o que já se concluiu anteriormente, pela Figura 22, podemos corroborar que o aumento da pressão vai proporcionar uma menor concentração de fenólicos totais e proantocianidinas no permeado, pelo que o aumento de pressão será benéfico para a concentração de extratos ricos em compostos polifenólicos. A membrana EW 60 é aquela que apresenta o pior desempenho em termos de separação pois a concentração de sólidos totais, fenólicos totais e proantocianidinas presentes em permeado é muito próxima da concentração destes na alimentação

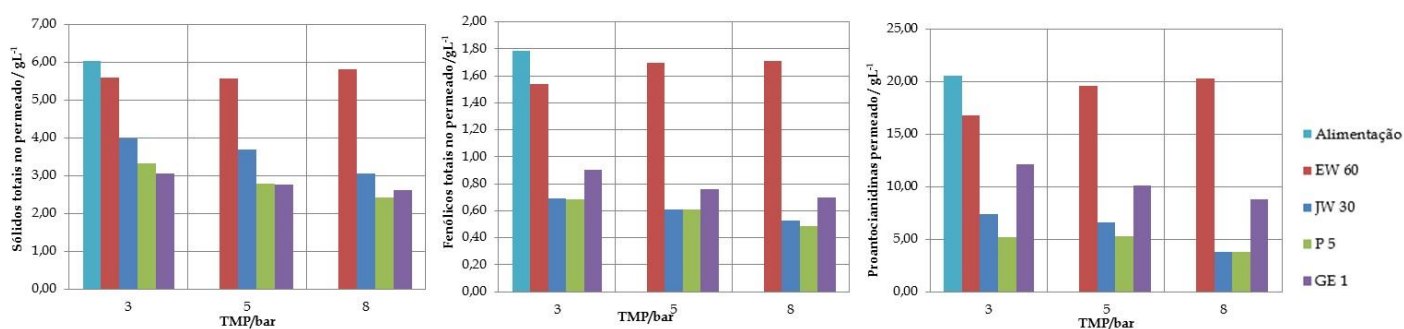


Figura 23 – Sólidos totais (A), compostos fenólicos totais (B) e proantocianidinas (C) presentes na alimentação e nos permeados obtidos durante a permeação do extrato à temperatura de 35°C, com um

caudal de permeação 4,5 Lpm e a diferentes pressões aplicadas em modo sequencial e em reciclo total com as membranas seleccionadas GE 1, P 5, JW 30, EW 60.

Relativamente aos taninos condensáveis em formaldeído não é possível fazer uma interpretação completa pois a quantidade de amostra obtida não foi suficiente para proceder a todas as análises, pelo que se deu prioridade à quantificação dos fenólicos totais e proantocianidinas. Pela análise da Figura 24 podemos concluir que a quantidade de taninos condensáveis em formaldeído que atravessou a membrana EW 60 é praticamente igual à que existia na alimentação, enquanto que para as outras membranas os valores de retenção rondam 50%.

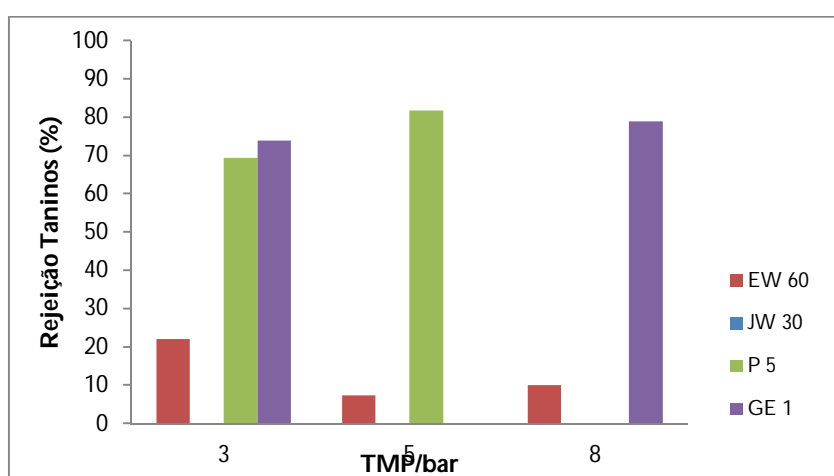


Figura 24 – Rejeição aos taninos condensáveis em formaldeído na permeação do extrato à temperatura de 35°C, com um caudal de permeação 4,5 Lpm e a diferentes pressões aplicadas em modo sequencial e em reciclo total com as membranas seleccionadas GE 1, P 5, JW 30, EW 60.

À pressão de 3 bar, a quantidade de taninos condensáveis em formaldeído que atravessaram a membrana P 5 foi ligeiramente inferior à da GE 1. Quando se compara o número de stiasny na membrana P 5, para as pressões de 3 bar e 5 bar e no caso da membrana GE 1 para a pressão de 3 bar e 8 bar, verifica-se a mesma tendência anterior, ou seja, a diminuição destes compostos no permeado quando se aumenta a pressão, o que indica que a rejeição da membrana aos taninos condensáveis em formaldeído é favorecida com o aumento da pressão. Tal como na permeação dos sólidos totais, verifica-se rejeições semelhantes para as membranas GE 1 e P 5, apesar dos seus *cut-offs* distintos este facto, tal como já referido anteriormente, deve-se à tendência da membrana GE 1 para a permeabilidade da solução etanólica e à susceptibilidade da membrana P 5 para a formação de *fouling*.

4.3. Pressão ótima para operação com as membranas

Com o intuito de otimizar o desempenho das membranas utilizadas durante a permeação do extrato obtido a partir da casca *E. globulus*, podemos estabelecer um compromisso entre o fluxo de permeado, a resistência devida ao *fouling* e a percentagem de rejeição a compostos fenólicos totais e a proantocianidinas. Por um lado, o fluxo de permeado bem como a rejeição aos compostos polifenólicos devem ser o mais elevados possível para que o processo seja rentável. Por outro lado, deve-se evitar a formação de *fouling* para diminuir os custos associados a este, devido à diminuição do tempo de vida das membranas e à necessidade da limpeza frequente das mesmas.

Relativamente à membrana EW 60, podemos concluir que a resistência devida ao *fouling* não aumenta muito com o aumento da pressão transmembranar - Figura 21. O fluxo volumétrico do permeado é favorecido quando se aumenta a pressão - Figura 20, no entanto, a rejeição a compostos fenólicos totais bem como a proantocianidinas diminui - Figura 22, pelo que, para as condições ensaiadas, a pressão a que se deve operar com esta membrana de forma a rentabilizar o processo deve ser de 3 bar.

O fluxo de permeado através da membrana GE 1 também aumenta com o aumento da pressão, a resistência devida ao *fouling* não sofre um aumento drástico, no entanto, quando se analisa a diferença entre a rejeição aos compostos polifenólicos a 5 bar e a de 8 bar, a mesma é relativamente baixa. Por isso, tendo em consideração questões energéticas a separação a 5 bar parece ser a mais adequada para esta membrana.

No que concerne às membranas P 5 e JW 30, ambas apresentam uma dependência similar no que se refere às rejeições a compostos fenólicos totais e a proantocianidinas em função da pressão sendo ambas muito afetadas pela formação de *fouling* com o aumento da pressão transmembranar. No caso da membrana JW 30 o aumento de pressão prejudica o fluxo de permeado e quase não tem impacto no fluxo de permeado na membrana P 5. Tendo em consideração estas variáveis a pressão mais favorável para operar em ambas as membranas será a de 5 bar.

5. Principais Conclusões

- ✓ As permeabilidades de todas as membranas foram afetadas negativamente quando se utilizou a solução etanólica 80% (V/V) em vez de água.
- ✓ As membranas EW 60, JW 30 e P 5 sofreram reduções do fluxo de permeado na ordem dos 90% em contraste com a membrana GE 1 que sofreu uma redução do fluxo de permeado na ordem dos 20%.
- ✓ Ao longo da permeação do extrato nas membranas GE 1, P 5 e EW 60, para as condições de pressão em que se operou, verificou-se uma relação linear entre a pressão transmembranar aplicada e o fluxo de permeado, isto é indicativo de que se operou numa região controlada pela pressão.
- ✓ O aumento da pressão transmembranar teve um efeito positivo na rejeição dos compostos polifenólicos, à exceção da membrana EW 60. Além disso, a membrana EW 60 foi a que apresentou o menor coeficiente de rejeição aos compostos polifenólicos.
- ✓ Apesar da membrana GE 1 ser a que apresenta o menor *cut-off* relativamente às restantes membranas utilizadas, a rejeição da mesma aos sólidos totais, fenólicos totais e proantocianidinas é menor do que a P 5 e JW 30, o que indica que o tipo de material da membrana tem papel relevante na separação.
- ✓ As pressões ótimas (estabelecendo um compromisso entre o fluxo de permeado, resistência devida ao fouling e rejeição aos fenólicos totais e proantocianidinas) de operação encontradas para os ensaios efetuados são: EW 60 – 3 bar; JW 30, P 5 e GE 1 – 5 bar.

Referências

1. **María A. Gadolfo, Elizabeth J. Hermesen, María C. Zamalao, Kevin C. Nixon, Cynthia C. González et al.** Oldest known Eucalyptus Macrofossils are from South America . *PLoS ONE* . 2011, Vol. 6(6) : e201084.
2. **Uva, José Sousa.** 6º Inventário Florestal Nacional - Áreas dos usos do solo e das espécies florestais de Portugal Continental. s.l. : Instituto da Conservação da Natureza e das Florestas, Fevereiro 2013.
3. **Mauricio A. Rostagno, Juliana M. Prado.** *Natural Product Extraction - principles and applications* . s.l. : RSC Green Chemistry, 2013.
4. **Pereira, Helena.** Variability in the chemical composition of plantation eucalyptus (*Eucalyptus globulus*). *Wood Fiber Sci.* 1988, Vol. 20, 82 - 90.
5. **H. Pereira, J. Graça, J. Rodrigues.** Wood chemistry to quality: 53 - 83. [aut. libro] J. Jeronimidinis J. Barnett. *Wood quality and its biological basis*. s.l. : Blackwell Publishing Oxford (3), 2003.
6. **I. Miranda, J. G., H. Pereira.** Incorporation of bark and tops in *Eucalyptus globulus* wood pulping. *Bioresources*. 2012, Vol. 7 (3), 4350 - 4361.
7. **Austin, George T.** *Shreve's Chemical Process Industries - 5th Edition*. s.l. : McGraw-Hill International Editions, 1984.
8. **R.M.A. Dominges, D.J.S. Patinha, G.D.A. Sousa, J.J. Villaverde, C.M. Silva, C.S.R. Freire, A.J.D. Silvestre, C. Pascoal Neto.** Eucalyptus biomass residues from agro-forest and pulping industries as sources of high-value triterpenic compounds. *Cellulose Chemistry and Technology*. 2011, Vols. 45 (7-8), 475-481.
9. **Inês Mota, Paula C. Rodrigues Pinto, Catarina Novo, Gabriel Sousa, Olinda Guerreiro, Ângela R. Guerra, Maria Fátima Duarte, Alírio E. Rodrigues.** Eucalyptus globulus bark as source of polyphenolic compounds with biological activity. *The 45th ABTCP International Pulp and Paper Congress and VII IberoAmerican Congress on Pulp and Paper Research*. São Paulo - Brazil, October, 9-11. 2012,.
10. **Mota, Maria Inês.** *Extração em base aquosa de compostos polares da casca de Eucalyptus globulus na perspetiva da sua recuperação*. Tese de Mestrado : Faculdade de Engenharia da Universidade do Porto, 2011.
11. **Mirra, Inês Martins Pereira.** *Influência das diferentes granulometrias na composição química das cascas de Eucalyptus globulus Labill., Betula pendula Roth, Picea abies (L.) Karst., Pinus sylvestris L. e Pinus pinea L.* . Tese de Mestrado : Universidade Técnica de Lisboa, 2011.
12. **Pereira, Helena.** Variability in the chemical composition of plantation eucalypts (*Eucalyptus globulus* Labill). *Wood Fiber Sci.* 1988, Vol. 20, 82 - 90.
13. **G. Vázquez, E. Fontenla, J. Santos, M.S. Freire, J. González-Álvarez, G. Antorrena.** Antioxidant activity and phenolic content of chestnut (*Castanea sativa*) shell and eucalyptus (*Eucalyptus globulus*) bark extracts. *Industrial Crops and Products*. 28, 2008, 279 - 285.
14. **Isabel Miranda, Jorge Gominho, Helena Pereira.** Incorporation of bark and tops in *Eucalyptus globulus* wood pulping . *BioResources*. 2012, Vol. 7, 4350 - 4361.
15. **Isabel Miranda, Jorge Gominho, Inês Mirra, Helena Pereira.** Fractioning and chemical characterization of barks of *Betula pendula* and *Eucalyptus globulus*. *Industrial Crops and Products*. 2013, Vol. 41, 299 - 305.
16. **Dietrich Fengel, Gerd Wegener.** *Wood - Chemistry, Ultrastructure, Reactions*. s.l. : Walter de Gruyter, 1984.

17. **Helena Pereira, Isabel Miranda, Jorge Gominho, Fátima Tavares, Teresa Quilhó, Jorge Graça, José Rodrigues, Anatoly Shatalov, Sofia Knapic.** *Qualidade e utilização tecnológica do eucalipto (Eucalyptus globulus)*. Lisboa : Centro de estudos florestais, 2010. 377 pps..
18. **P. Pinto, D. Evtuguin, C. Neto.** Structure of hardwood glucuronoxylans: modifications and impact on pulp retention during wood kraft pulping. *Carbohydr. Polym.* 2005, Vol. 60 (4), 489 - 497.
19. **I. Mota, P. Pinto, C. Novo, G. Sousa, O. Guerreiro, A. Guerra, M. Duarte, A. Rodrigues.** Eucalyptus globulus bark as a source of polyphenolic compounds with biological activity. *O PAPEL*. 2013, Vol. 74 (1), 57 - 64.
20. **Roger M. Rowell, Roger Pettersen, Mandla A. Tshabalala.** *Handbook of Wood Chemistry and Wood Composites - second edition*. s.l. : Taylor & Francis Group, 2013.
21. **Marinalva Oliveira Freitas, Edilberto Rocha Silveira.** Novos Flavonoides e heterosídeos isolados do kino de Eucalyptus citriodora Hook. *Sociedade Brasileira de Química*. 28ª reunião anual, 2005.
22. **Nagendran Balasundrama, Kalyana Sundram, Samir Samman.** Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. *Food Chemistry*. 2006, Vol. 99, 191 - 203.
23. **Bravo, Laura.** Polyphenols: Chemistry, dietary, sources, metabolism, and nutritional significance. *Nutrition Reviews*. 1998, Vol. 56, 317 - 333.
24. **Santos, Sónia Andreia Oliveira.** *Compostos fenólicos a partir de subprodutos da indústria florestal*. s.l. : Universidade de Aveiro, 2012. Tese de doutoramento.
25. **Elvira Conde, Researcher1, Estrella Cadahía, Maria C. García-Vallejo, Francisco Tomás-Barberán.** Low Molecular Weight Polyphenols in Wood and Bark of Eucalyptus Globulus. *Wood and Fiber Science*. 27, 1995, 379 - 383.
26. **E. Cadahía, E. Conde, B. Fernández de Simón, M.C. García-Vallejo.** Tannin Composition of Eucalyptus camaldulensis, E. globulus and E. rudis. Part II. Bark. *Holzforschung*. 1997, Vol. 51, 125 - 129.
27. **Kim JP, Lee IK, Yun BS, Chung SH, Shim GS, Koshino H, Yoo ID.** Ellagic acid rhamnosides from the stem bark of Eucalyptus globulus. *Phytochemistry*. 2001, Vol. 57, 587 - 591.
28. **S. Santos, C. Freire, M. Domingues, A. Silvestre, C. Neto.** Characterization of Phenolic Components in Polar Extracts of Eucalyptus globulus Labill Bark by High-Performance Liquid Chromatography - Mass Spectrometry. *J. Agric. Food Chem.* 2011, Vol. 59, 9386 - 9393.
29. **G. Vázquez, J. Santos, M. Freire, G. Antorrena, J. González-Álvarez.** Extraction of Antioxidants from Eucalyptus (Eucalyptus globulus) Bark. *Wood Sci. Technol.* 2012, Vol. 46, 443 - 457.
30. **G. Vázquez, J. González-Alvarez, J. Santos, S. Freire, G. Antorrena.** Evaluation of Potencial Applications for Chestnut (Castanea sativa) Shell and Eucalyptus (Eucalyptus globulus) Bark Extracts. *Ind. Crops Prod.* 2009, Vol. 29, 364 - 370.
31. **E. Conde, E. Cadahia, R. Diez-Barra, M. García-Vallejo.** Phenolic Composition of Bark Extracts from Eucalyptus camaldulensis, E. globulus and E. rudis. *J. Wood Prod.* 1996, Vol. 54, 175 - 181.
32. **Farid Chemat, Maryline Abert Vian, Giancarlo Cravotto.** Green Extraction of Natural Products: Concept and Principles. *International Journal of Molecular Sciences*. 2012, Vol. 13, 8615 - 8627.

33. **Mota, Inês y al, et.** Extration of Polyphenolic Compounds from Eucalyptus globulus Bark: Process Optimization and Screening for Biological Activity. *Industrial & Engineering Chemistry Research*. 2012, Vol. 51 (20), pp 6991–7000.
34. **Enma Conde, Beatriz Díaz Reinoso, M^a Jesús González-Munoz, Andrés Moure, Herminia Domínguez, Juan C. Parajó.** Recovery and Concentration of Antioxidants from Industrial Effluents and from Processing Streams of Underutilized Vegetal Biomass. *Food and Public Health*. 2013, Vol. 3 (2), 69-91.
35. **Beatriz Díaz-Reinoso, Andrés Moure, Herminia Domínguez, Juan Carlos Parajó.** Ultra and nanofiltration of aqueous extracts from distilled fermented grape pomace. *Journal of Food Engineering*. 91, 2009, 587 - 593.
36. **B. Santamaría, G. Salazar, S. Beltrán, J. L. Cabezas.** Membrane sequences for fractionation of polyphenolic extracts from defatted milled grape seeds. *Desalination*. 148, 2002, 103 - 109.
37. **Nwuha, V.** Novel studies on membrane extraction of bioactive components of green tea in organic solvents: part I. *Journal of Food Engineering*. 44, 2000, 233 - 238.
38. **Mulder, Marcel.** *Basic Principles of Membrane Technology 2nd edition*. s.l. : Kluwer Academic Publishers , 2000.
39. **Paul Anastas, Julie Zimmerman.** Design of Through the 12 Principles Green Engineering. *American Chemical Society* . March 2003, Vols. 95 - 101, Environmental Science & Technology.
40. **Shri Ramaswamy, Hua-Jiang Huang, Bandaru V. Ramarao.** *Separation and Purification Technologies in Biorefineries*. s.l. : John Wiley & Sons, Ltd., 2013.
41. **Cheryan, Munir.** *Ultrafiltration and Microfiltration - Handbook*. University of Illinois : Technomic, 1998.
42. **Mahmoud Shatat, Mark Worall, Saffa Riffat.** Opportunities for Solar Water deslination Worldwide: Review. *Sustainable Cities and Society*. 2013, Vol. 9, 67-80.
43. **Puro, Liisa.** *Identification of extractives and polysaccharides as foulants in membrane filtration of pulp and paper mill effluents*. Filand : Lappeenranta University of Technology, 2011.
44. **Benjamim Espinasse, Patrice Bachin, Pierre Aimar.** Filtration method characterizing the reversibility of colloidal fouling layers at a membrane surface: Analysis through critical flux and osmotic pressure. *Journal of Colloid and Interface Science*. 2008, Vol. 320, 483-490.
45. **Rishi Shukla, Munir Cheryan.** Performance of ultrafiltration membranes in ethanol-water solutions: effect of membrane conditioning. *Journal of Membrane Science*. 2002, Vol. 198, 75-85.
46. **Eliza M. Tsui, Munir Cheryan.** Characterisitics of nanofiltration membranes in aqueous ethanol. *Journal of Membrane Science*. 2004, Vol. 237, 61-69.
47. **V. L. Singleton, Joseph A. Rossi Jr.** Colorimetry of Total Phenolics with Phosphomolybdc-Phosphotungstic Acid Reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*. 1965, Vol. 16, 144 - 158.
48. **Bate-Smith, E.C.** Phytochemistry of proanthocyanidins. *Phytochemistry*. 1975, Vol. 14, 1107 - 1113.
49. **Lawrence J. Porter, Liana N. Hrstich, Bock G. Chana.** The conversion of procyanidins and prodelphinidins to cyanidin and delphinidin. *Phytochemistry*. 1985, Vol. 25, 223 - 230.
50. **P. M. Tahir, O. C. Musgrave, Z. Ashaari.** Determination of Polyphenolic Content of Bark Extracts for Wood Adhesives. *Holzforschung*. 2002, Vol. 56, 267 - 272.
51. **W. E. Hillis, G. Urbach.** Reaction of Polyphenols with Formaldehyde. *Journal of Applied Chemistry*. 1959, Vol. 9, 665 - 673.

52. **Miller, G. L.** Use of Dinitrosalicylic Acid Reagent for Determination of Reducing Sugar. *Analytical Chemistry*. 1959, Vol. 31 (3), 426-428.
53. **B. Van der Bruggen, J. Geens, C. Vandecasteele.** Influence of organic solvents on the performance of polymeric nanofiltration membranes. *Separation Science and Technology*. 2002, Vol. 37 (4), 783 - 797.
54. —. Fluxes and rejections for nanofiltration with solvent stable polymeric membranes in water, ethanol and n-hexane. *Chemical Engineering Science*. 2002, Vol. 57 (13), 2511-2518.
55. **J. Geens, K. Peeters, B. Van der Bruggen, C. Vandecasteele.** Polymeric nanofiltration of binary water-alcohol mixtures: Influence of feed composition and membrane properties on permeability and rejection. *Journal of Membrane Science*. 2005, Vol. 255, 255-264.
56. **Smalwood, Ian M.** *Handbook of Organic Solvent Properties*. s.l. : Arnold, 1996.
57. **Ibrahim Sadek Khattab, Farzana Bandarkar, Mohammad Amin Abolghassemi Fakhree, Abolghasem Jouyban.** Density, viscosity, and surface tension of water+ethanol mixtures from 293 to 323 K. *Korean Journal of Chemical Engineering*. 2012, Vol. 29 (6), 812 - 817.
58. **B. Tansel, W.Y. Tao, I. N. Tansel.** Characterization of fouling kinetics in ultrafiltration systems by resistances in series model. *Desalination*. 2000, Vol. 129, 7 - 14.
59. **Diqiao . Wei, M. Hossain, Zaid S. Saleh.** Separation of Polyphenolics and Sugar by Ultrafiltration: Effects of Operating Conditions on Fouling and Diafiltration. *World Academy of Sciences, Engineering and Technology*. 2007, Vol. 34, 17 - 24.
60. **Heru Susanto, Yu Feng, Mathias Ulbricht.** Fouling behavior of aqueous solutions of polyphenolic compounds during ultrafiltration. *Journal of Food Engineering*. 2009, Vol. 91, 333 - 340.
61. **F. Javier Benítez, Juan L. Acero, Ana I. Leal, Manuel González.** The use of ultrafiltration and nanofiltration membranes for the purification of cork processing wastewater. *Journal of Hazardous Materials*. 2009, Vol. 162, 1438 - 1445.
62. **Haseeb Nawaz, John Shi, Gauri S. Mittal, Yukio Kakuda.** Extraction of polyphenols from grape seeds and concentration by ultrafiltration. *Separation Purification Technology*. 2006, Vol. 48, 176 - 181.

Anexo

Exemplo de cálculo para a determinação da permeabilidade hidráulica da membrana e a respetiva resistência.

Genericamente, o fluxo da água pura através dos poros da membrana, em processos cuja força motriz é a diferença de pressão, é diretamente proporcional à pressão hidrostática aplicada de acordo com a seguinte equação, (38):

$$J = \frac{\Delta P}{\mu \times R_m}$$

Onde:

R_m – resistência hidrodinâmica da membrana, m^{-1} .

J – fluxo volumétrico, $m^3 m^{-2} s^{-1}$.

μ – viscosidade dinâmica, $Pa \cdot s$.

ΔP – diferença de pressão na membrana, Pa .

Note-se que a permeabilidade hidráulica (L_p) é igual a: $L_p = \frac{1}{\mu \times R_m}$

Membrana: Pleaide 5 kDa

Área: 0,014 m^2

Caudal alimentação: 4,5 Lpm

Pressão hidráulica: 30 bar

P_{out} /bar	T_{vessel} /°C	V/mL	t/s	$J_p / L \cdot m^{-2} \cdot h^{-1}$
8,6	35,5	69,50	26,97	662,64
8,0	35,3	76,00	32,15	607,86
7,0	35,2	68,00	33,21	526,52
6,0	35,1	80,00	44,72	460,01
5,5	35,8	79,00	47,20	430,39
5,0	35,6	81,00	53,21	391,44
4,0	35,4	82,00	66,27	318,18
3,0	35,4	52,00	53,51	249,89
2,0	35,5	33,00	48,10	176,42
1,0	35,4	19,00	47,62	102,60

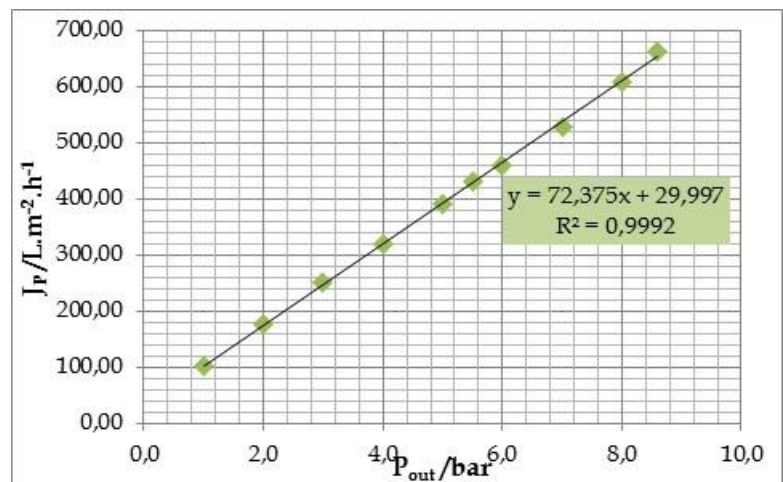


Figura 25 – Fluxo do permeado em função da pressão transmembranar aplicada.

Assim, a permeabilidade hidráulica desta membrana é igual a $72,37 L \cdot m^{-2} \cdot h^{-1} \cdot bar^{-1}$ e a resistência inerente à membrana é igual a:

$$R_m = \frac{1}{\mu_{H_2O} \times L_p} = \frac{1}{7,20 \times 10^{-4} \times \left(\frac{72,37 \times 10^{-3}}{3600 \times 10^5} \right)} = 6,91 \times 10^{12} m^{-1}$$

Com, $\mu_{H_2O, 35^\circ C} = 7,20 \times 10^{-4} Pa \cdot s$